"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد یازدهم، شماره ٤، زمستان ١٤٠١
(ص ٣٤-١٧)
مقاله پژوهشی

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 11, No.: 4, Winter 2023
(pp: 17-34)
DOI: 10.22092/ijsst.2022.358170.1426
Research Article

تأثیر تیمار پرایمینگ بذر بر تحمل به تنش شوری گیاه فلوس (*Cassia fistula* L.) در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه

اسماعیل ابراهیمی[1]، سید امیر موسوی[2*]، سید عطاالله سیادت[3]، نوراله معلمی[4] و محمد صبائیان[5]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اگروتکنولوژی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۲. استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۳. استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۴. استاد گروه مهندسی باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۵. دانشیار گروه فیزیک، دانشگاه شهید چمران اهواز
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۰۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲)

چکیده

جوانه‌زنی بذر یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین مراحل رشد و نمو گیاهان می‌باشد، به‌طوری‌که اهمیت و اثر بسزایی در سایر مراحل رشد آن دارد. فلوس، گیاهی از خانواده نیامداران و دارای خواص داروئی فراوان است. تکثیر فلوس به‌وسیله بذر انجام می‌شود، اما هنوز مطالعه و گزارشی در خصوص میزان تحمل این بذر به تنش شوری در کشور ارائه نشده است. دو آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. در آزمایش اول، اثر تیمار هورمون پرایمینگ با جیبرلین، هالوپرامینگ با نیترات پتاسیم و هیدروپرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر فلوس بررسی شد. نتایج بدست آمده از این آزمایش نشان داد که بیشترین بنیه بذر در تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر جیبرلین و مدت ۱۲ ساعت پرایمینگ ایجاد شد. پس از انتخاب بهترین تیمار (جیبرلین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت)، ویژگی‌های جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده در شرایط تنش شوری (صفر، ۴، ۸، ۱۴، ۱۶ و ۲۰ دسی زیمنس بر متر) با بذرهای پرایم نشده مقایسه شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که تیمار نتایج نشان داد که میزان تحمل به تنش شوری فلوس در مرحله جوانه‌زنی بطور قابل توجهی با پرایمینگ بذر افزایش یافت. در تیمار پرایم، تا سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری در شاخص جوانه‌زنی مشاهده نشد، اما افزایش سطح شوری به ۱۶ دسی زیمنس بر به کاهش معنی دار شاخص جوانه زنی انجامید، البته تفاوتی بین سطوح شوری ۱۶ و ۲۰ دسی زیمنس مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: بنیه، تنش، شاخص جوانه‌زنی

Effect of seed priming on salinity tolerance of (*Cassia fistula* L.) at seed germination and seedling growth stages using digital image analysis

E. Ebrahimi[1], S. A. Moosavi[2*], S. A. Siadat[3], N. Moallemi[4], M. Sabaeian[5]

1. Master Student in Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan.
2. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan.
3. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan.
4. Professor of Horticultural Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz
5. Associate Professor, Department of Physics, Shahid Chramran University of Ahvaz
(Received: Mar. 24, 2022 – Accepted: Jun. 12, 2022)

Abstract

Seed germination is one of the most important and basic stages of plant growth and development so it has great importance and effect on other stages of its growth. Cassia is a plant from the legume family and has many medicinal properties. Cassia propagation is done by seeds, but no study and report on the tolerance of these seeds to salinity stress in the country have been presented yet. Two factorial experiments were performed in a completely randomized design at the Seed Technology Laboratory of Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan. In the first experiment, the effect of hormone priming treatment with gibberellin, halopriming with potassium nitrate, and hydro priming on Cassia seed germination was investigated. The results of this experiment showed that the highest seed vigor was obtained in the treatment of 50 mg/l gibberellin for 12 hours of priming. After selecting the best treatment (gibberellin 50 mg/l for 12 hours), germination characteristics of primed seeds compared with no primed seeds under salinity stress (0, 4, 8, 14, 16, and 20 dS/m). The results showed that seed tolerance to salinity stress at the germination stage increased significantly with seed priming. The highest seed vigor was observed in priming treatment at no salinity stress condition (339.89) while the lowest seed vigor of primed treatment was observed in 20 dS/m. Unprimed seeds could not withstand salinity stress beyond 4 dS/m.

Keywords: Vigor, Stress, Germination index

* Email: amirmoosavi@asnrukh.ac.ir

مقدمه

تغییر اقلیم، یکی از مؤثرترین عوامل تغییر دهنده‌ی الگوی بارندگی در هر منطقه است؛ بنابراین باتوجه به آثار گسترده و متقابل اقلیم با بخش‌های مختلف کشاورزی، محیط زیست و جوامع انسانی، امروزه از تغییر اقلیم به عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست محیطی پیش روی اکوسیستم‌های کشاورزی نام می‌برند (Arora, 2019). تغییر اقلیم می‌تواند باعث تغییر الگوی بارش، کاهش یا افزایش میزان بارش‌های جوی و همچنین وقوع حوادث و بلایای طبیعی غیرقابل پیش‌بینی شود. پیامدهای تنش شوری، سالیانه حدود ۱۰ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی جهان را تحت تأثیر آثار مخرب خود قرار می‌دهد به طوری که از قابلیت کشت، کار و کیفیت آن‌ها می‌کاهد (Raven, 2021). در ایران اراضی قابل توجهی با EC (هدایت الکتریکی) بالاتر از استاندارد و درگیر با تنش شوری وجود دارد (Fathizah *et al.,* 2020). تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل طبیعی است که اثر مستقیمی روی کاهش رشد گیاهان می‌گذارد و به دلیل تغییرات، اقلیم فراونی این تنش در جهان نیز رو به افزایش است (Corwin, 2021; Isayenkov, *et al*., 2019). بیشترین اثر منفی این تنش بر شاخص جوانه‌زنی بذر اتفاق می‌افتد (Uçarlı, *et al.,* 2020). ادامه این روند اثر مستقیمی بر کاهش پارامترهای جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه خواهد گذاشت (Parihar *et al.,* 2015). در بررسی اثر تنش شوری بر روی فلوس گزارش شده است که مکانیسم موثری برای کنترل میزان جذب خالص یون سدیم انتقال آن به بافت‌های در این گیاه وجود ندارد و با افزایش سطح تنش شوری از ۰/۲ دسی زیمنس بر متر تا ۱۱/۹ درسی زیمنس برمتر جذب سدیم افزایش یافت، اما از میزان جذب نیتروژن و پتاسیم کاسته شد. همچنین تنش شوری باعث کاهش محتوای آب بافتی گیاه فلوس شد (Hardikar and Pandey, 2011). سدیم با پتاسیم در جذب توسط گیاه رقابت دارد و بنابراین زیاد شدن میزان سدیم در محیط باعث کاهش جذب پتاسیم توسط فلوس خواهد شد و این علت کاهش میزان پتاسیم در باقت‌های گیاه در معرض تنش شوری می‌تواند باشد. همچنین با افزایش شدت تنش شوری به‌دلیل بالا رفتن غلظت کلرید سدیم، میزان کلر در باقتهای گیاه فلوس از جمله برگ‌ها نیز افزایش می‌یابد (Bala *et al.,* 2018).

یکی از راه کارهای مواجه شدن با پدیده تغییر اقلیم و کاهش آسیب به زیست بوم، یافتن گیاهانی است که بتوانند در شرایط تنش شوری به بقاء خود ادامه دهند و علاوه بر رشد و نمو، بتوانند محصولات قابل استفاده برای انسان و دام تولید نمایند. اولین گام در تولید و پرورش چنین گیاهانی شناخت زیست شناسی جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌باشد.

حساس‌ترین مرحله زندگی گیاه، مرحله جوانه‌زنی بذر است؛ زیرا موفقیت در این دوره اثر زیادی در استقرار و کیفیت حیات بذر و گیاهچه دارد (Lamichhane *et al.,* 2018). جوانه‌زنی بذر یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین مراحل رشد و نمو گیاهان می‌باشد، به‌طوری‌که اهمیت و اثر بسزایی در سایر مراحل رشد آن دارد (Jiménez-Alfaro *et al.,* 2016). در این مرحله گیاهان مختلف حساسیت‌های متفاوتی به عوامل محیطی نشان می‌دهند. عمده‌ترین چالشی که گیاهان در مرحله جوانه‌زنی در مناطق گرم و خشک با آن مواجه هستند، وجود خواب بذر و همین‌طور تنش‌های شوری و خشکی می‌باشد که با اثر بر کیفیت جوانه‌زنی، رشد و استقرار آن‌ها را محدود می‌سازند.

امروزه شیوه‌های متفاوتی برای بهبود و افزایش خصوصیات بذر وجود دارد. یکی از مهم‌ترین آن‌ها استفاده از روش پرایمینگ است. پرایمینگ باعث بهبود کارایی پارامترهایی مانند درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، بنیه بذر و استقرار بهتر گیاهچه می‌شود (Waqas *et al.,* 2019). همچنین

نتایج دیگر پژوهش ها مبین این اســـت که به کارگیری تکنیک پرایمینگ ضمن بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی منجر به یکنواختی ســبز شــدن گیاهچه‌ها شــده و آســتانه تحمل بذرها برای جوانه‌زنی در شرایط نامنا سب تنش‌های محیطی مثل شــوری، دما و خشــکی را افزایش می‌دهد (Banerjee *et al.,* 2018). اتفاقی که در تکنیک پرایمینگ برای بذرها رخ می‌دهد، موجب می شود بذرها در مدت زمان اندکی آب را طی دو مرحله آبنو شی جذب کنند؛ بنابراین در صورت انتقال و کاشت در زمین اصلی باعث بهبود کارایی در جوانه‌زنی سریع‌تر و یکنواختی در سبز شدن آن‌ها می‌شود (Sing *et al.,* 2015; Waqas *et al.,* 2019).

گیاه فلوس درختی خزان کننده و با نام علمی *Cassis fistula* و متعلق به خانواده نیا مداران با خواص دارویی اســـت. و به دلیل فراوانی گل‌های زرد زیبایش در فضای سبز نیز استفاده می شود . از طرفی چون این گیاه از خانواده لگومینوزه ا ست، باعث حا صلخیزی و کاهش نیاز به مصرف کود شیمیایی در فضای سبز شهری نیز می‌شود (Pawar *et al.,* 2017; Danish *et al.,* 2011). تکثیر گیاه فلوس به‌وســـیله بذر انجام می‌شـــود، اما هنوز مطالعه و گزارش دقیق در خصـــوص میزان تحمل این بذر به تنش شـوری در کشـور ارائه نشـده و مرور منابع انجام شـده نیز نشـان داد که گزارش‌های بسـیار محدودی در خصـوص میزان تحمل به تنش‌های محیطی در این گیاه وجود دارد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررســـی تأثیر تنش شوری روی صفات جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه فلوس و تأثیر ا ستفاده از فناوری پرایمینگ بذر در افزایش تحمل به تنش شوری آن است.

زمان و محل انجام پژوهش

پژوهش حاضـر در سـال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در آزمایشـگاه تکنولوژی بذر گروه مهندســی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوز ستان در ملاثانی در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز در حاشـیه رودخانه کارون با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۴ دقیقه و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۲ دقیقه با ارتفاع ۲۷ متر از سطح دریا اجرا شد.

تهیه و آماده سازی بذر

غلاف‌هـای ســـالم گیـاه فلوس در ســـال ۱۳۹۸ از فروشـگاه‌های مجاز گیاهان دارویی در شـهر اهواز تهیه و سپس اقدام به بذرگیری از آن‌ها شـد. برای این‌که دخالت عوامل بیماری‌زا به حداقل برســـد، ابتدا بذرها با قارچ‌کش هگزاکونازول (۵ درصد سوسپانسیون قارچ‌کش سیستمیک با اثر حفاظتی و معالج) تولید شـرکت آریا شـیمی (غلظت دو در هزار) ضدعفونی شدند.

در آزمایش مقدماتی که توسـط محققین انجام گرفت مشـــخص شـــد که بذر فلوس دارای پوســـته نفوذ ناپذیری اسـت و این اصـلی ترین مانع برای جوانه‌زنی آن محسـوب می‌شـــود. بذرها در ابتدا فاقد جوانهزنی بودند و به‌همین خاطر آزمون زنده‌مانی با تترازولیم انجام شـد تا مشـخص شود بذها مرده هستند یا زنده اما دارای خواب هستند. در پیش آزمایش که انجام شـد انواع روش‌های شـکســـت خواب بذر بر روی این گیاه آزمایش گردید و بهترین و موثرترین روش شکست خواب بذر که خراش دهی پوسته به‌منظور برطرف ساختن خواب فیزیکی بذرهاست مشخص گردید. تیمارهای مختلفی برای شـکسـت خواب بذر انجام گرفت و نهایتا مشـــخص گردید که با ایجاد خراش روی پوسته جوانه‌زنی امکان پذیر شد. بنابراین تمامی بذرها ایتدا ســاکاریفاید شــدند و در ادامه مورد اســتفاده قرار گرفتند (ابراهیمی و همکاران، ۱۴۰۰).

آزمایش اول: آزمون تترازولیوم

در ابتدا دو نوع محلول بافر (۱) و (۲) از نمک های KH_2PO_4 و Na_2HPO_4 تهیه شد و سپس به نسبت ۲ قسمت از محلول شماره (۱) و ۳ قسمت از محلول شماره (۲) باهم مخلوط شدند. در نهایت ۱۰۰ سی‌سی از محلول حاصل را بـا یـک گرم نمـک تترازولیوم مخلوط کرده و محلول حاصـل تترازولیوم ۱ درصـد به دسـت آمد. برای انجام این

آزمایش در بررسی ابتدایی بذور، بذور سالم و یکدست انتخاب و جداسازی شد سپس، تعداد ۱۵۰ عدد بذر به‌صورت تصادفی انتخاب و در دو گروه ۷۵ تایی تقسیم شد.

روش ساخت محلول‌های آزمون تترازولیوم

برای به دست آوردن محلول بافر شماره یک، مقدار ۹/۰۷۸ گرم نمک KH_2PO_4 در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد؛ و سپس برای تهیه محلول شماره دو، مقدار ۹/۴۷۲ گرم از نمک Na_2HPO_4 در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. در ادامه ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول بافر شماره یک KH_2PO_4 و از محلول شماره دو ۳۰۰ میلی‌لیتر برداشت کرده و با هم مخلوط شد. در این شرایط pH محلول بایستی بین ۶/۵ تا ۷/۵ باشد. سپس از محلول به دست آمده ۱۰۰ سی‌سی برداشته و یک گرم نمک تترازولیوم را با ترازو وزن کرده و با هم مخلوط کرده و کاملاً هم زده شد و مخلوط حاصل در تاریکی و در جای خنک قرار داده شد (Leist, 2003). البته قبل از انجام آزمون تترازلیوم، بذور مورد نظر به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مفطر خیسانده شدند تا ضمن جذب آب، بافت‌های آن به‌طور کامل آبگیری شوند. سپس آن‌ها را به‌گونه‌ای که جنین آسیب نبیند به‌وسیله تیغ یا چاقو به دو قسمت تقسیم شد. تعداد ۲۵ عدد بذر مورد نظر به پتری دیش شیشه‌ای حاوی محلول تترازولیوم یک درصد بذر منتقل شد. در ظرف را بسته و آن را درون فویل قرار داده و در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس بذرها به منظور ارزیابی میزان رنگ‌پذیری مورد سنجش قرار گرفتند (França-Neto *et al.,* 2019).

طرح آزمایشی شامل ۲ مرحله بود:

مرحله ۱ آزمایش: تعیین بهترین تیمار پرایمینگ از نظر بهبود جوانی زنی و رشد گیاهچه مرحله

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۹ تیمار در سه تکرار انجام شد. در هر ظرف پتری دیش تعداد ۲۵ عدد بذر قرار داده شد. کلیه تیمارهای پرایمینگ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شدند. تیمارهای انجام شده عبارت بودند از:

- شاهد (پرایم نشده)
- هیدروپرایمینگ به مدت زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت)
- پرایمینگ هورمونی توسط هورمون اسید جیبرلیک در ۵ سطح (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت)
- پرایمینگ با نمک نیترات پتاسیم در ۳ سطح (۰/۵، ۱ و ۲ درصد)، به مدت زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت)

برای انجام آزمایش، ابتدا کلیه ظروف و سپس بذرها به‌طور کامل ضدعفونی گردید. به این منظور، بذرها توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد به مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی و پس از آن چند بار با آب مقطر شستشو داده شد (Sauer *et al.,* 1986). در هنگام اعمال تیمار پرایمینگ، بذرهای فلوس را در داخل ظروف شیشه‌ای مناسبی قرار داده و سپس محلول‌های مورد نظر در هر ظرف به‌گونه‌ای اضافه شد که بخشی از سطح بذرها خارج از محلول قرار گرفته و محدودیت اکسیژن ایجاد نگردد. بعد از خارج کردن از محیط پرایم برای رسیدن به تعادل رطوبتی در دمای محیط آزمایشگاه (۲۵ درجه سلسیوس) بذرها برای ارزیابی به روش جوانه‌زنی استاندارد (ISTA, 2017) به ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شد.

مرحله ۲ آزمایش: بررسی تاثیر تنش شوری بر جوانی زنی و رشد گیاهچه و نقش تیمار پرایمینگ برتر در کاهش اثر تنش شوری

بر اساس نتیجه به دست آمده از مرحله ۱ آزمایش، تیمار برتر پرایمینگ بذر با تیمار پرایم نشده بذر (شاهد) در شدت های مختلف تنش شوری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتندآزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عاملی با ۶ سطح تنش شوری شامل صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ دسی زیمنس بر متر و ۲ سطح پرایمنیگ شامل تیمار برتر پرایمینگ و تیمار شاهد (عدم اجرای پرایمینگ) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در این

آزمایش تعداد ۱۲۰۰ عدد بذر مورد استفاده قرار گرفت. برای اجرای تنش شوری از نمک کلرید سدیم (ساخت شرکت مرک آلمان) استفاده شد. تیمار صفر شوری یا شاهد توسط آب مقطر انجام شد.

آزمون جوانه‌زنی

ابتدا ظروف پتری دیش‌های ۱۲ سانتی‌متری، در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت ضدعفونی شد. تعداد ۲۵ عدد بذر سالم در هر پتری قرار گرفت. قبل از اجرای آزمایش بذور از هر گونه گرد و غبار و ناخالصی پاک شد. سپس در هر پتری دیش بسته به نوع تیمار، مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول‌های آزمایش ریخته و به ژرميناتور منطبق با دستورالعمل ISTA, 2017 در دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شد. همچنین برای به حداقل رساندن خطای تبخیر، پتری دیش‌ها درون پلاستیک کاملاً بسته شد. شمارش بذرهای جوانه زده در روز (هر ۲۴ ساعت) صورت گرفت تا زمانی که تعداد بذرهای جوانه‌زده در دو شمارش متوالی ثابت شود. معیار برای جوانه‌زدن بذرها، خروج ریشه‌چه به طول ۲ میلی‌متر یا بیشتر در نظر گرفته شد (Soltani *et al.,* 2015).

صفات مورد ارزیابی

درصد جوانه‌زنی

درصد جوانه‌زنی (GP) بذرها پس از گذشت یک ماه از شروع آزمایش، براساس رابطه زیر محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981).

$$(GP) = \frac{\Sigma\, ni}{N} \times 100$$

که در این رابطه ni: تعداد بذرهای جوانه‌زده و N: تعداد کل بذرهای هر تیمار است.

متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی

متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی (MGT) که شاخصی از سرعت و درصد جوانه‌زنی است، از رابطه زیر محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1980).

$$MGT = \sum n_i.d_i / \sum n_i$$

در این فرمول n_i = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز iام ، d_i = تعداد روز i ام بعد از شروع آزمون و i روز اول، دوم و غیره بعد از شروع آزمون را نشان می‌دهد.

ضریب سرعت جوانه‌زنی

این شاخص (CVG)، مشخصه سرعت و شتاب جوانه‌زنی بذور است که از رابطه زیر محاسبه شد (Maguire 1962)

$$CVG = \frac{G1+G2+G3+\cdots\ldots+Gn}{(1\times G1)+(2\times G2)+(3\times G3)+\cdots\ldots+(n\times Gn)}$$

Gn – G1 تعداد بذور جوانه‌زده از روز اول تا روز آخر را نشان می‌دهد.

شاخص جوانه‌زنی

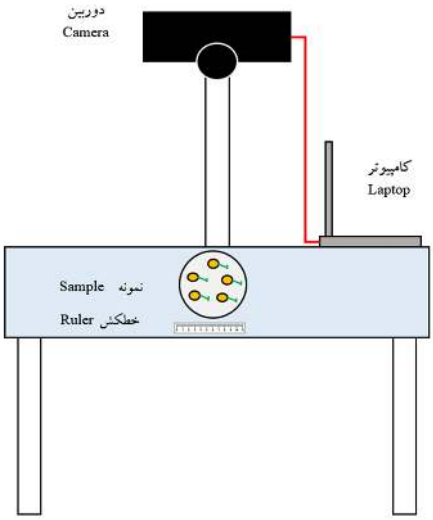
شاخص جوانه‌زنی (GI)، که مشخصه سرعت و درصد جوانه‌زنی استنیز بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (Scott *et al.,* 1984)

$$GI = \sum TiNi/S$$

Ti تعداد روز بعد از کشت، N1= تعداد بذر جوانه زده در روز iام و S تعداد کل بذر کشت شده است.

شاخص رشد گیاهچه

به منظور ارزیابی شاخص رشد گیاهچه، طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه بعد از پایان آزمون جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. برای این کار از میانگین تمام گیاهچه های طبیعی هر پتری دیش استفاده شد. تصاویر توسط دوربین دیجیتال دارای سنسور تصویر CCD از پنج گیاهچه هر پتری دیش دریافت و پس از ذخیره‌سازی به کامپیوتر برای پردازش داده منتقل شدند. از نرم افزار پردازش تصویر، دی جی مایزر(Digimizer) و تکنیک تحلیل تصویر دیجیتال بر اساس کالیبراسیون واحد مقیاس خط کش در تصویر انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱- سامانه دریافت تصویر دیجیتال از نمونه و پردازش آن
Figure 1- Digital Imaging system for image acquisition from samples and further analysis

بنیه بذر

بنیه بذر نیز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد که در آن VI = شاخص بنیه، sl = میانگین طول ساقه‌چه برحسب میلی‌متر، rl = طول ریشه‌چه برحسب میلی‌متر و GP = درصد جوانه‌زنی کل در پایان آزمایش است (ISTA, 2010).

$$VI=GP\times(rl+sl)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمون نرمال بودن داده‌ها و انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام شد و نتایج به دست آمده، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال خطای ۵ درصد صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم افزارهای اکسل رسم گردید.

نتایج و بحث

برای محققان علوم و تکنولوژی بذر همواره پیش از انجام آزمایش‌های تخصصی پیرامون بذرها، زنده‌مانی و بنیه حیات آن‌ها، اهمیت زیادی دارد؛ بنابراین به‌کارگیری آزمون‌های بیوشیمیایی این امکان را به پژوهشگران می‌دهد تا درک زود هنگامی از شرایط فعل و انفعالات درون (متابولیک) بذر که زنده یا مرده و یا در خواب بسر می‌برند، حاصل شود. نتیجه به دست آمده از آزمایش تترازولیوم نشان داد که علی‌رغم عدم جوانه‌زنی در مدت زمان یک هفته در پتری دیش ها، پس از انجام آزمون بیوشیمیایی تترازولیوم مشخص گردید که کلیه بذرها زنده بوده و بنابراین وجود خواب بذر عامل عدم ایجاد جوانه‌زنی آن‌ها بود (شکل ۲).

شکل ۲- رنگ پذیری بذرهای فلوس در آزمون تترازولیوم پس از جدا کردن پوسته بذر
Figure 2- Tetrazolium staining of Cassia after seed coat removal

متوسط زمان و شاخص جوانه‌زنی

تیمارهای پرایمینگ بذر در سطح احتمال آماری ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر متوسط زمان جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی بذرهای فلوس، به عنوان معیارهای ارزیابی شکست خواب بذر، داشت (جدول ۱). کمترین متوسط زمان جوانه‌زنی از تیمار نیترات پتاسیم به مدت ۱۲ ساعت در هر دو غلظت ۱ و ۲ درصد به ترتیب به مقدار ۴/۳۰ و ۵/۳۰ روز حاصل شد که با تیمار هیدروپرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی به مقدار ۱۵/۹۴ روز از تیمار شاهد حاصل شد، به نحوی که متوسط جوانی زنی در تیمار شاهد در مقایسه با تمام تیمارهای دیگر به مقدار معنی‌داری بیشتر بود (جدول ۲). بیشترین شاخص جوانه‌زنی مربوط به تیمار هیدرو پرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت به میزان ۴۲۵/۲۳ بود که نسبت به تیمار شاهد ۱/۵۴ برابر شاخص جوانه‌زنی بیشتری داشت اما اختلاف شاخص جوانه‌زنی آن با به تیمار هیدرو پرایمینگ به مدت ۲۴ ساعت معنی دار نبود (جدول ۲). کمترین مقدار شاخص جوانه‌زنی از تیمار جیبرلین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در ۲۴ ساعت حاصل شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما در مقایسه با تیمار هیدروپرایمینگ به مدت ۲۲ ساعت به طور معنی دار و به میزان ۱/۷۵ برابر شاخص جوانه‌زنی کمتری داشت (جدول ۲). تیمار پرایمینگ بذرها را در معرض محرک‌های مختلفی برای جوانه‌زنی و رشد قرار می‌دهد و به دلیل رخ دادن انواع تغییرات بیوشیمیایی مانند فعالشدن آنزیم‌ها، سنتز محرکهای رشد، ترمیم آسیب سلولی به بذرها باعث بهبود جوانه‌زنی و افزایش سرعت این فرایند می‌شود (Digirolamo *et al.,* 2021). گزارش‌ها نشان دهنده تأثیر پرایمینگ بذر در کاهش زمان لازم برای جوانه‌زنی می‌باشد (Guan *et al.,* 2009). مطالعه انجام شده درباره تأثیر تیمار پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر ۱۰ گونه درخت نشان داد که این تیمار قادر به کاهش دادن متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی بذرها بطور کاملا موثری می‌باشد (Becerra-Vázquez *et al.,* 2020).

جدول ۱- تجزیه واریانس تیمار بهبود کارایی بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و بنیه بذور فلوس

Table 1- Analysis of variance for seed enhancement treatments on germination indices, seedling growth and vior of cassia

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square						
		درصد جوانه‌زنی Seed Germination	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination time	شاخص جوانه‌زنی Germination index	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length	طول گیاهچه Seedling length	بنیه بذر Seed vigor
پرایمینگ بذر Seed Priming	18	252.11**	17.10**	5011.54**	0.30**	0.43**	1.120**	6803.15**
خطای آزمایشی Error	38	43.82	0.59	1251.10	0.068	0.040	0.10	1210.15
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation	-	10.64	10.73	11.10	11.45	12.92	8.37	14.60

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns, *, ** nonsignificant, significant at probability 0.05, 0.01, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین تیمارهای بهبود دهنده کارایی بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذر فلوس

Table 2- Mean comparision of seed enhancement treatments on seed germination and seedling growth of Cassia

تیمار Treatment	درصد جوانه‌زنی Seed Germination	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time	شاخص جوانه‌زنی Germination index	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Root length (cm)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)	بنیه بذر Seed Vigor
بدون پرایم No prime	0.84^{a}	94.15^{a}	8.276^{bcd}	15.2^{ab}	74.0^{f}	90.2g	8.243^{bcd}
هیدروپرایمینگ، ۱۲ ساعت Hydropriming (12h)	6.78^{ab}	49.7^{bcd}	3.425^{a}	24.2^{ab}	160.1^{ef}	40.3^{d}-g	3.268^{a-d}
هیدروپرایمینگ، ۲۴ ساعت Hydropriming (24h)	6.58^{b-e}	58.6^{b-e}	3.321^{a-d}	93.2^{a}	65.1^{b-e}	58.4^{abc}	4.268^{a-d}
جیبرلین ۵۰ppm، ۱۲ ساعت GA 50 ppm, 12 h	6.74^{abc}	67.8^{b}	8.344^{a-d}	52.2^{ab}	29.2^{a}	82.4^{a}	3.360^{a}
جیبرلین ۱۰۰ppm، ۱۲ ساعت GA 100 ppm, 12 h	3.55^{cde}	00.6^{cde}	7.313^{bcd}	44.2^{ab}	11.2^{ab}	55.4^{abc}	2.252^{bcd}
جیبرلین۲۰۰ppm، ۱۲ ساعت GA 200 ppm, 12 h	0.56^{cde}	72.6^{bcd}	0.284^{bcd}	54.2^{ab}	00.2^{abc}	54.4^{abc}	1.261^{a-d}
جیبرلین ۴۰۰ppm، ۱۲ ساعت GA 400 ppm, 12 h	6.62^{b-e}	72.6^{bcd}	3.333^{a-d}	92.2^{a}	71.1^{a-e}	54.4^{ab}	4.291^{ab}
جیبرلین۸۰۰ppm، ۱۲ ساعت GA 800 ppm, 12 h	0.52^{de}	02.6^{cde}	3.265^{cd}	13.2^{ab}	69.1^{a-e}	83.3^{b}-g	4.199^{bcd}
جیبرلین۵۰ppm، ۲۴ ساعت GA 50 ppm, 24 h	3.61^{b-e}	93.5^{cde}	3.321^{a-d}	57.2^{ab}	61.1^{b-e}	19.4^{a-d}	0.258^{a-d}
جیبرلین۱۰۰ppm، ۲۴ ساعت GA 100 ppm, 24 h	0.64^{a-e}	45.6^{b-e}	5.323^{a-d}	23.2^{ab}	80.1^{a-d}	045.4^{a-f}	0.259^{a-d}
جیبرلین۲۰۰ppm، ۲۴ ساعت GA 200 ppm, 24 h	6.56^{cde}	28.7^{bcd}	1.243^{d}	32.2^{ab}	67.1^{b-e}	00.4^{a-f}	4.228^{bcd}
جیبرلین۴۰۰ppm، ۲۴ ساعت GA 400 ppm, 24 h	6.66^{a-e}	98.6^{bcd}	6.358^{abc}	40.2^{ab}	77.1^{a-e}	18.4^{a-e}	5.279^{abc}
جیبرلین۸۰۰ppm، ۲۴ ساعت GA 800 ppm, 24 h	0.56^{cde}	40.6^{b-e}	0.288^{bcd}	90.1^{b}	71.1 $^{a-e}$	61.3^{c}-g	6.202^{bcd}
نیترات پتاسیم ۰/۵، ۱۲ ساعت KNO3 0.5%, 12 h	3.60^{b-e}	68.7^{bcd}	6.330^{a-d}	19.2^{ab}	31.1^{def}	51.3^{d}-g	8.212^{bcd}
نیترات پتاسیم ۱، ۱۲ ساعت KNO3 1%, 12 h	3.48^{e}	30.4^{e}	0.304^{bcd}	99.1^{b}	38.1^{cde}	38.3^{d}-g	9.163^{d}
نیترات پتاسیم ۲، ۱۲ ساعت KNO3 2%, 12 h	3.57^{cde}	30.5^{de}	3.309^{bcd}	93.1^{b}	25.1^{def}	19.3^{ef}g	6.183^{cd}
نیترات پتاسیم ۰/۵، ۲۴ ساعت KNO3 0.5%, 24 h	3.61^{b-e}	92.7^{bc}	3.309^{bcd}	086.2^{b}	22.1^{def}	30.3^{d}-g	4.200^{bcd}
نیترات پتاسیم 1، ۲۴ ساعت KNO3 1%, 24 h	6.70^{a-d}	67.8^{b}	6.374^{ab}	87.1^{b}	25.1^{def}	13.3^{f}g	4.220^{bcd}
نیترات پتاسیم ۲، ۲۴ ساعت KNO3 2%, 24 h	0.56^{cde}	57.5^{cde}	3.325^{a-d}	91.1^{b}	16.1^{ef}	07.3^{f}g	3.173^{cd}

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار توسط آزمون دانکن می‌باشد.

Similar letters indicate nonsignificant differences according to duncan’s test

کمترین مدت متوسط جوانه‌زنی به مقدار ۴/۳۰ مربوط به پرایمینگ بذرها با نیترات پتاسیم ۱ درصد به مدت زمان ۱۲ ساعت بود، اما با هیدروپرایمینگ، ۲۴ ساعت (۶/۵۸) اختلاف معنی دار نداشت. در بین تیمارها هر دو تیمار هالوپرایمینگ ۱۲ و ۲۴ ساعت دارای شاخص جوانه‌زنی بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها بوند و هر دو نسبت به شاهد برتری معنی دار ایجاد نمودند. با در نظر گرفتن این نکته که هدف از پرایمینگ بذرها علاوه بر افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش مدت زمان این فرایند، رشد بهتر گیاهچه نیز هست، انتخاب برترین تیمار پرایمینگ به پس از بررسی صفات گیاهچه‌ای و بنیه بذر محول شد.

طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه

طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه فلوس بطور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار پرایمنیگ قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین طول ریشه چه به مقدار ۲/۹۳ گرم در تیمار هیدرو پرایم ۲۴ ساعت مشاهده شد که با تیمار شاهد و هیدرو پرایم ۱۲ ساعت اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). بین هیچ یک ار تیمار ها از نظر طول گیاهچه اختلاف معنی‌داری با شاهد وجود نداشت (جدول ۲). از این جهت به نظر می رسد برای دستیابی به بیشترین طول ریشه چه، نیازی به انجام پرایمینگ نیست (جدول ۲). بیشترین طول ساقه چه در تیمار جیبرلین ۵۰، ۱۲ ساعت به مقدار ۲/۲۹ سانتی‌متر بود، که به طور معنی‌دار نسبت به تیمار های شاهد، هالوپرایمینگ ۱۲ ساعت و هالو پرایمینگ ۲۴ دارای طول ساقه چه بیشتری داشت (جدول ۲). بیشترین طول گیاهچه نیز مربوط به تیمار جیبرلین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت ۱۲ ساعت به طول ۴/۸۲ سانتی‌متر بود که با تیمار هیدروپرایمینگ ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌داری ندا شت اما در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار هیدروپرایمینگ، ۱۲ساعت طول گیاهچه بیشتری داشت که این اختلاف معنی دار بود. (جدول ۲). تنش شوری باعث کاهش ۳۷٪ وزن خشک ریشه و بیش از ۵۱٪ وزن خشک ساقه زیتون رقم Chemlali شد (Moula *et al.,* 2020). اثر مثبت تیمار پرایمینگ در بهبود جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه بسیاری از گیاهان از جمله کاچ، کاسیا، آکالیپتوس و بادام گزارش شده است (Sisodia *et al.,* 2018). کاربرد اسید جیبرلیک باعث افزایش ۱۴ درصدی در آسمیلاسیون فتوسنتزی زیتون می‌شود (Mola *et al.,* 2020). استفاده از هورمون پرایمیگ از موثرترین پیش تیمارهای بذر برای مقابله با شرایط پر تنش محیطی است (Atici *et al*. 2003; Gratao *et al*. 2005; Jisha *et al*. 2013). هورمون پرایمینگ با GA_3 و نیترات پتاسیم باعث افزایش رشد گیاهچه انجیر شد (Rawat *et al*. 2010). بذرهای درخت *Gmelina arborea* گیاهچه در شت تر و جوانه‌زنی بهتری پس از تیمار هیدروپرایمینگ در مقایسه با بذرها تیمار نشده داشتند (Sisodia *et al.,* 2018).

بنیه بذر

بنیه بذرهای فلوس در سطح احتمال یک در صد بطور معنی‌دار تحت تأثیر تیمارهای پرایمینگ قرار گرفت (جدول ۱). بیشترین بنیه بذر در تیمار تیمار جیبرلین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت میزان ۳۶۰/۳۶ بود که با تیمارها شاهد اختلاف معنی دار داشت، اما تفاوت بنیه بذر در این نبمار با تیمارهای تیمار هالوپرایمینگ ۱۲ و ۲۴ ساعت معنی دار نبود.(جدول ۲). بهبود بنیه بذر توسط تیمار جیبرلین در گیاهان مختلفی از جمله ذرت (Shah *et al.,* 2021)؛ نخود (Tiwari *et al.,* 2021) و برهان (Saeed, *et al.,* 2020) گزارش شده است. استفاده از هورمون جیبرلین در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث بهبود درصد جوانه‌زنی و کاهش مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای *Lathyrus sativus* L. شد بطوریکه جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده در سطح شوری ۱۲دسی زیمنس بر متر ۸۶ درصد اما بذرهای پرایم نشده تنها ۶۷ درصد جوانه‌زنی داشتند.

به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت جیبرلین در هنگام آبنوشی و به‌دنبال آن فعالیت بیشتری آنزیم‌ها از جمله آمیلازها و

آنتی اکسیدانت‌ها باعث بهبود سرعت و کیفیت جوانه‌زنی و بنیه بذر می‌شود (Seethalakshmi, *et al.,* 2022; Ahmad *et al.,* 2021). بنابراین تیمار برتر از نظر بنیه که مهمترین صفت کیفیت بذر محسوب می‌شود، تیمار جیبرلین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت تعیین می‌شود. این تیمار در مقایسه با تیمار شاهد و هالوپرایمینگ از نظر بسیاری از صفات مورد بررسی برتری دارد، ضمن اینکه چرا که بیشترین بنیه بذر با استفاده از این تیمار حاصل شد. همچنین اینکه از نظر غلظت و مقدار کم هورمون مورد استفاده و مدت زمان کوتاه انجام تیمار، بیشترین شباهت (اجرائی) را به تیمار شاهد دارد.کاربرد ۳۰۰ میلی گرم در لیتر جیبرلین باعث ۴۳ ردصد افزایش وزن خشک گیاهچه کلزا شد. همچنین تیمار جیبرلین قندهای محلول در بذر کلزا را تا ۴۷ درصد افزایش داد. این تیمار باعث افزایش ۴۶ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که آنتی اکسیدان مهمی برای مقاومت به تنش‌ها در کلزا است (Li *et al*., 2010).

درصد جوانه‌زنی

تیمارهای پرایمینگ، تنش شوری و اثر متقابل میان آن‌ها تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال خطای ۱ درصد) بر درصد جوانه‌زنی بذر فلوس داشت (جدول ۳). پرایمینگ بذر در تمام سطوح تنش شوری به جز سطح شوری صفر باعث افزایش جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری شد (شکل ۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۷٪) در شرایط عدم شوری به دست آمد که تفاوتی بین در صد جوانه‌زنی تیمار پرایم و شاهد در سطح شوری صفر دیده نشد. در شرایط پرایم نشده از سطح شوری ۸ دسی زیمنس بر متر به بعد جوانه‌زنی متوقف شد (شکل ۱)، سرعت کاهش در صد جوانی زنی با افزایش شوری در بذرهای پرایم نشده بسیار شدید و تقریبا خطی بود به نحوی که اختلاف معنی‌داری بین هر سه سطح شوری صفر، ۲ و ۴ دسی زیمنس از نظر درصد جوانه مشاهده گردید (شکل ۱). در حالی که بذرهای پرایم شده تا سطح شوری ۸ دسی زیمنس بر متر توانایی تحمل تنش شوری را داشتند و کاهش معنی‌داری در میزان جوانه‌زنی آن‌ها در مقایسه با شرایط عدم تنش ایجاد نشد (شکل ۱)، با افزایش سطح شوری به بالاتر از ۸ دسی زیمنس بر متر درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌دار شروع به کم شدن نمود که این روند تا شوری۱۶ دسی زیمنس بر متر ادامه پیدا کرد و مقدار درصد جوانه در این سطح شوری به ۴۲٪ رسید، اما سطح شوری ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش بیشتری در درصد جوانه‌زنی نسبت به سطح شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر نشد. این توانایی جوانه‌زنی در شرایط تنش شدید بسیار قابل توجه است چرا که بسیاری از گیاهان هالوفیت نیز به‌سختی در چنین شرایط شوری قادر به جوانه‌زنی هستند.

یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری است؛ زیرا تأثیرات مهمی بر فیزیولوژی و مرفولوژی گیاه می‌گذارد و موجب کاهش رشد و نمو و عملکرد محصول می‌شود (Parihar *et al.,* 2015). تنش شوری از آغاز جوانه‌زنی بذر تا بلوغ گیاه بر خصوصیات فیزیولوژی آن تأثیر مخرب می‌گذارد. مکانیسم این تنش به‌گونه‌ای است که یون های نمک، مولکول های آب را گرفتار کرده و باعث بهم خوردن تعادل اسمزی می شوند و شیب حرکت آب و املاح را به سمت ریشه گیاه حرکت کرده و این روند را مختل می‌کند (Loutfy *et al.,* 2020). تنش شوری اساسا پتانسیل اسمزی را افزایش می‌دهد و در نتیجه آن جذب آب توسط ریشه‌ها مختل خواهد شد (Das and Roychoudhury, 2014). تنش اکسیداتیو شدیدی که به دلیل سمیت یونی Na^+و Cl^- رخ می‌دهد باعث به‌خطر افتادن ساختار ماکرومولکول‌ها و نفوذپذیری غشاء و حتی توسعه جنین خواهد شد (Roychoudhury and Chakraborty, 2013). تنش شوری می‌تواند جوانه‌زنی بذر لگوم‌ها را بطور معنی‌داری کاهش دهد (Tsegay *et al.,* 2014). پرایمینگ به رشد و توسعه جنین کمک می‌کند. آبنوشی انجام شده طی پرایمینگ سبب شل شدن آندوسپرم و بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی بذر خواهد شد که از آن دسته می‌توان به

خارج شـــدن بازدارنده‌های شـــیمایی از بذر اشـــاره کرد (Bewley *et al.,* 2013). پرایمینگ بدر بصـورت بسـیار موثری می‌تواند اثرات مضر یون‌های Na^+و Cl^-را از طریق فعالســـازی پمپ‌های غشـــاء ســـلولی کـاهش دهـد (Bakht *et al*., 2011). فعـال شـــدن آنزیم‌هـای آنتی اکسیدانت مانند کاتلاز، پراکسیداز باعث بدام افتادن میزان قابل توجهی از گونه‌های فعال اکسـیژن مضـر می‌شـود و بنـابراین از خســـارت تنش اکســـیـداتیو بـه عنوان تنش ثانویه در مواجه بذر با تنش شـوری کاسـته خواهد شـد (Ibrahim *et al.,* 2016; Alves *et al*., 2020).

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر تنش شوری و پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و بنیه بذور فلوس تحت تنش شوری

Table 3- Analysis of variance for effect of salinity and priming on germination indices, seedling growth and seed vigor of cassia under salinity stress

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square						
		درصد جوانه‌زنی Seed Germination	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination time	شاخص جوانه‌زنی Germination index	طول ریشه‌چه Root length	طول ساقه‌چه Shoot length	طول گیاهچه Seedling length	بنیه بذر Seed vigor
تنش شوری (S) Salinity stress	5	2844.02**	4026.68**	**4.80	4.80**	1.87**	12.32**	65023.09**
پرایمینگ (P) Priming	1	17825.52**	30624.75**	36.99**	36.99**	26.58**	126.06**	442747.08**
S×P	5	986.22**	12295.15**	1.88**	**1.88	0.87**	4.76**	24769.48**
خطای آزمایشی Error	36	13.49	343.80	0.0024	0.0024	0.0024	0.128	244.07
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation	-	5.10	3.15	5.3	5.3	7.6	8.4	511

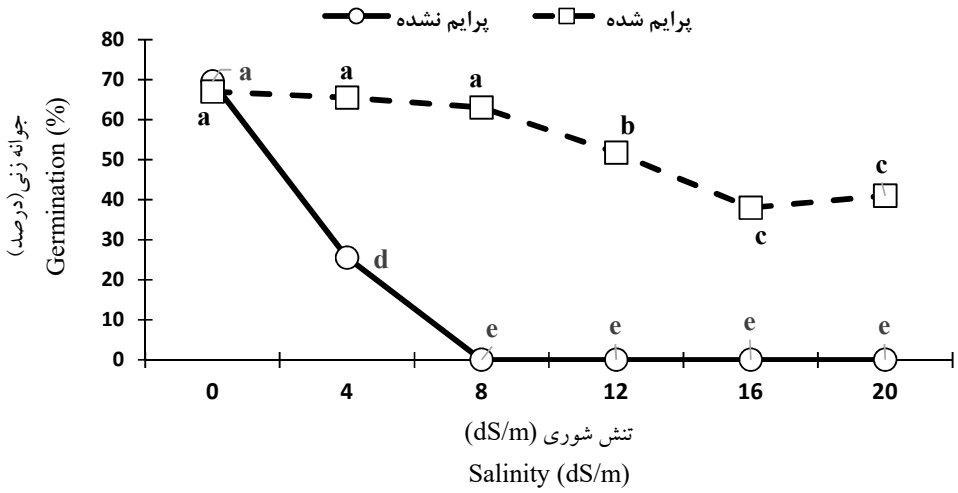
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns, *, ** nonsignificant, significant at probability 0.05, 0.01, respectively.

شاخص جوانه‌زنی

تیمارهای پرایمینگ، تنش شـوری و اثر متقابل میان آن‌ها تأثیر معنی‌داری (در ســطح احتمال ۱ درصـد) بر شاخص جوانه‌زنی بذر فلوس داشت (جدول ۳). پرایمینگ بذر نه تنها در تمام ســطوح تنش شـوری بلکه در ســطح شـوری صـفر نیز باعث افزایش شـاخص جوانه‌زنی شـد (شکل ۱). در تیمارهای پرایم نشده، با افزایش شدت تنش شوری میزان این شاخص کاهش قابل توجهی پیدا نمود به نحوی که در سطح تنش شوری ب۸ دسی زیمنس بر متر و بالاتر شاخص جوانه‌زنی به صفر رسید (شکل ۲). سرعت کاهش شاخص جوانه‌زنی در بذرهای پرایم نشده از سطح شـوری صـفر تا ۸ دسـی زیمنس نسـبت به سـرعت کاهش درصـد جوانه‌زنی در همین محدوده شـوری شـدیدتر بود (شکل ۱ و شکل ۲)، به نحوی که اختلاف معنی‌داری بین شـاخص جوانه‌زنی سـطح شـوری ۴ و ۸ دسـی زیمنتس مشاهده نشد (شکل ۱ و ۲). در تیمار پرایم، تا سطح شوری ۱۲ دســی زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری در شـاخص جوانه‌زنی مشـاهده نشـد، اما افزایش سـطح شـوری به ۱۶ دســی زیمنس بر به کاهش معنی دار شـاخص جوانه زتی انجامید، البته تفاوتی بین سـطوح شـوری ۱۶ و ۲۰ دسـی

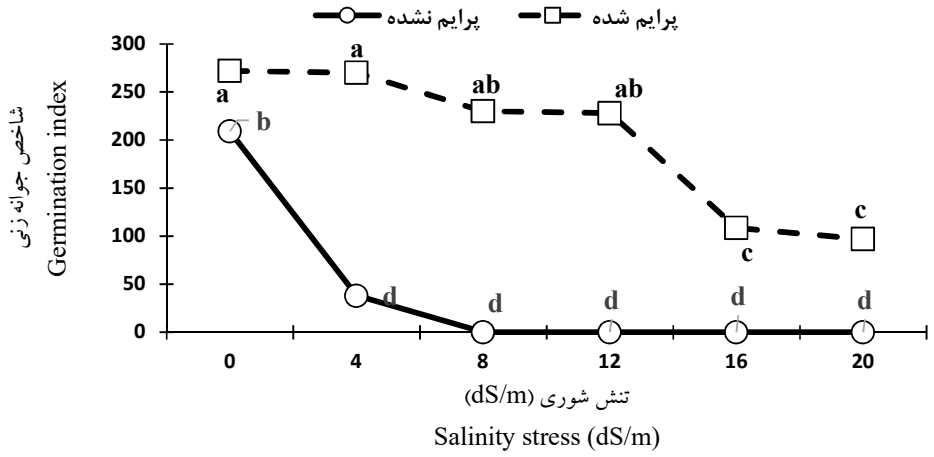
زیمنس مشـــاهده نشـــد. تیمار پرایمینگ می‌توان باعث افزایش معنی‌داری در میزان شـاخص جوانه‌زنی شـود. این تیمار با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکســیدانت مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاهش فعالیت آنزیم مالون دی آلدهاید سـبب بهبود شـاخص جوانه‌زنی بذر گندم شـــد (Zhang *et al.,* 2007). در مطالعه انجام شده توسط (Chen *et al.,* 2021) عاملی که در پرایمینگ اســتفـاده می‌شـــود را بـه‌عنوان فـاکتوری مهم در بهبود شـــاخص‌های جوانه‌زنی و ســـرعت جوانه‌زنی بذرهای سورگوم در شرایط تنش شوری ارزیابی نمودند.



شکل ۱- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی بذر فلوس

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

Figure 1- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia seed germination
Similar letters are indicators of no significant difference



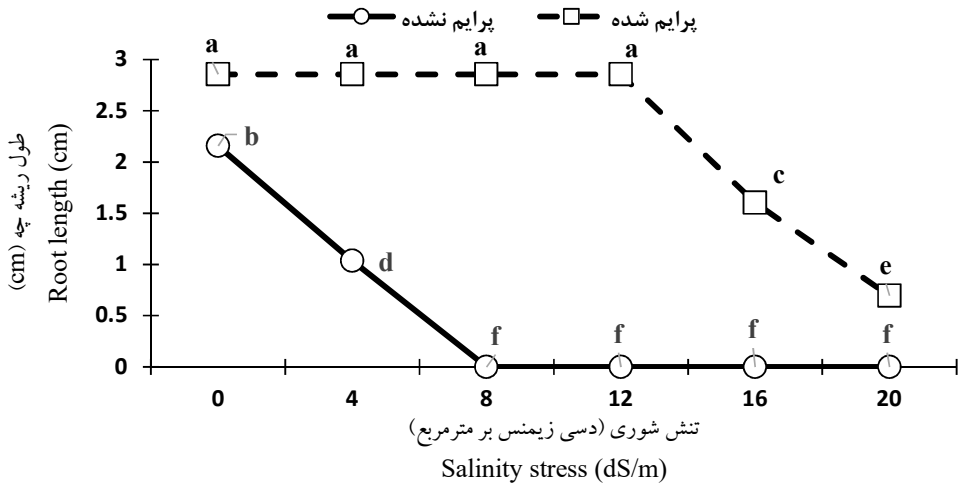
شکل ۲- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر شاخص جوانه‌زنی بذر فلوس

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون دانکن می‌باشد

Figure 2- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia germination index
Similar letters are indicators of no significant difference

طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه

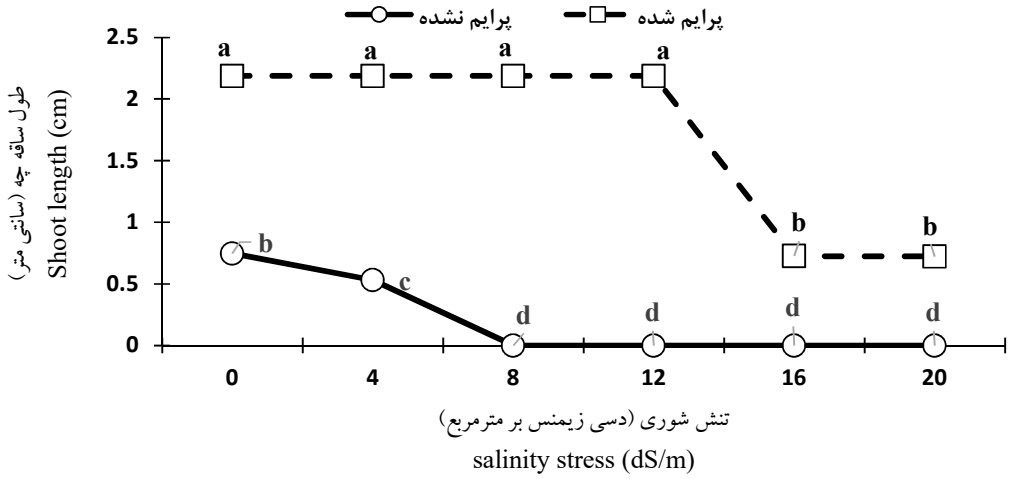
با توجه به نتایج تجزیه واریانس، تیمارهای پرایمینگ، تنش شوری و اثر متقابل میان آن‌ها تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال خطای ۱ درصد) بر طول ریشه‌چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه بذر فلوس داشتند (جدول ۳)؛ نه تنها در شرایط شوری بلکه در سطح شوری صفر نیز پرایمینگ بذر موجب افزایش معنی طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه در مقایسه با عدم پرایم (شاهد) شد که البته سودمندی پرایمینگ در سطح شوری صفر برای رشد ساقه چه کمتر از سودمندی آن برای رشد ریشه چه بود (نمودار ۳ ۴ ۵). پرایم در شرایط شوری صفر طول ریشچه را از حدود ۲۵ درصد (۲/۲ به ۲/۸) رسانده است اما طول ساقه چه را حدود ۲۰۰ درصد (۰/۷۵ به ۲/۲۵ افزایش است ، البته رویه سودمندی بیشتر پرایم برای ساقه چه در مقایسه با ریشه چه در سطح شوری تیز مشهود است (نمودار ۳ و۴) بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار پرایمینگ پ در تنش شوری ۰، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر به طول ۲/۸۵ سانتی‌متر مشاهده شد درحالی که در بین تیمارهای پرایمینگ کمترین میزان طول ریشه‌چه ۰/۶۹ سانتی‌متر در سطح تنش شوری ۲۰ دسی زیمنس بر متر به دست آمد (شکل ۳). بیشترین رشد طولی ساقه‌چه در تیمار پرایمینگ و با وجود و عدم وجود تنش شوری به میزان ۲۱/۱۸ سانتی‌متر مشاهده شد و کمترین میزان طول ساقه‌چه ۰/۷۲۲ سانتی‌متر در سطح تنش شوری ۲۰ دسی زیمنس بر متر به دست آمد (شکل ۴). بیشترین رشد طول گیاهچه در تیمار پرایمینگ و با وجود و عدم وجود تنش شوری به طول گیاهچه ۵/۴۳ سانتی‌متر مشاهده شد درحالی‌که در بین تیمارهای پرایمینگ کمترین طول گیاه چه ۱/۴۱ سانتی‌متر بود که در سطح تنش شوری ۲۰ دسی زیمنس بر متر به دست آمد (شکل ۵). نتایج نشان داد که رشد گیاهچه در شرایط پرایم همراه با افزایش غلظت شوری در غلظت‌های مختلف صفر تا ۱۲ دسی زیمنس، رشد افزایشی یکسانی داشت ولی در تنش‌های شوری ۱۶ و ۲۰ دسی زیمنس با رشد کندتری همراه بود ولی این کاهش رشد در مقایسه با بذرهای پرایم نشده کمتر دیده شد. این یافته حاکی از این است که این بذرها در شرایط پرایم رشد مطلوب‌تر و نیز در شرایط شوری بالا علاوه بر اینکه رشد کندتری داشتند، تحمل خوبی داشتند.



شکل ۳- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر طول ریشه‌چه بذر فلوس

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون دانکن می‌باشد

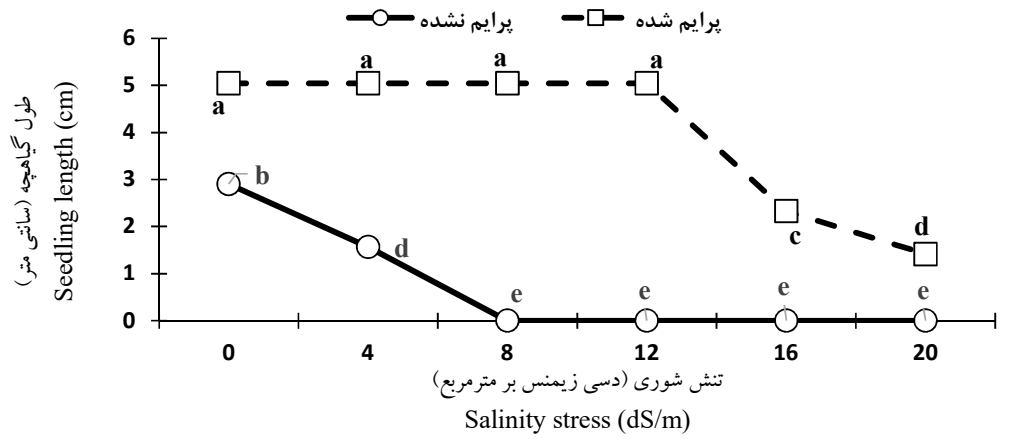
Figure 3- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia root length
Similar letters are indicators of no significant difference



شکل ۴- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر طول ساقه‌چه بذر فلوس

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون دانکن می‌باشد

Figure 4- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia shoot length
Similar letters are indicators of no significant difference



شکل ۵- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر طول گیاهچه بذر فلوس

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار توسط آزمون دانکن می‌باشد

Figure 5- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia seedling length
Similar letters are indicators of no significant difference

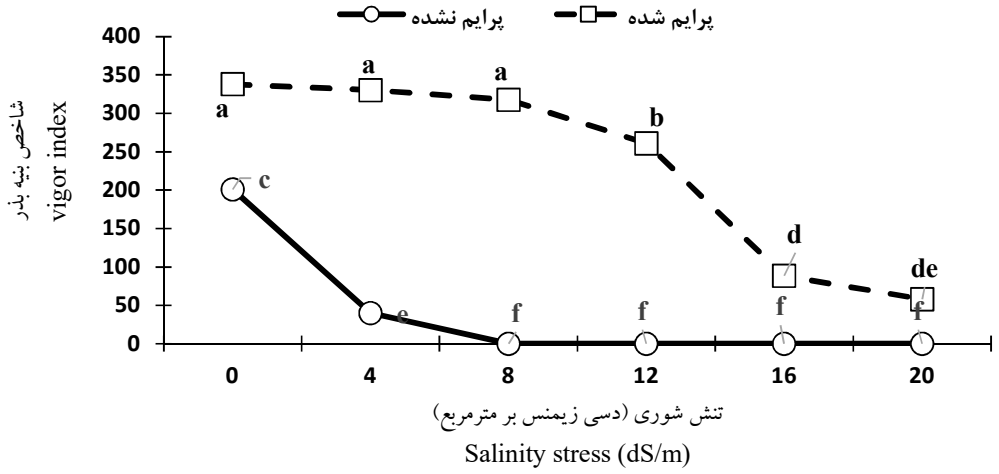
گیاه برای داشتن رشد و نمو مناسب همواره وابستگی تگاتنگی با محیط پیرامون خود دارد. یکی از مهم‌ترین عواملی محیطی که حیات گیاه به آن وابسته است، آب، این مایع حیات بخش است. اگر آب به‌اندازه کافی قابل‌دسترس ریشه گیاه نباشد، می‌تواند خسارت‌های جبران ناپذیری بدنبال داشته باشد زیرا آب شادابی، طراوت و فشارتورژسانس را به سلول‌های گیاهی می‌بخشد. حال در صورت عدم و نقصان آن تأثیر مستقیمی روی اندازه و

شکل سلول‌ها گذاشته و از رشد و نمو آن‌ها جلوگیری می‌کند. عامل تنش شوری بر گیاه اثر منفی داشته و موجب کاهش رشد، نمو و ارتفاع گیاهچه می‌شود (Parihar *et al.,* 2015). گزارش شده زمانی که گیاه تحت تنش شوری قرار می‌گیرد، در اندام‌های گیاه یون سدیم تجمع می‌یابد که در این صورت آسیب جدی به سیستم غشایی و آنزیمی آن وارد می‌آورد (Ibrahim *et al.,* 2016). گیاهانی که دچار تنش شوری می‌شوند، طی دو مرحله رشد آن‌ها کند می‌شود. در مرحله اول سلول گیاه برای مقابله با املاح نمک انرژی مصرف می‌کند و در مرحله دوم در مقابل آثار سمی بیش از حد، یون‌های نمک را در بخش‌هایی از سلول از جمله کلروپلاست و میتوکندری انباشته می‌کند که باعث کاهش رشد و نمو گیاه می‌گردد (Hameed *et al.,*2021). نتایج آزمایشی نشان داد که با افزایش سطوح شوری در بذور چغندرقند، طول گیاهچه کاهش یافت (Khayamin *et al.,* 2016).

بنیه بذر

بنیه بذر در سطح احتمال خطای ۱ درصد تحت تاثیر تیمارهای پرایمینگ، تنش شوری و اثر متقابل قرار گرفت (جدول ۳). پرایمینگ نه‌تنها در تیمارهای مواجه با تنش شوری باعث بهبود معنی‌دار بنیه و شاخص بنیه بذر گردید، بلکه حتی در شرایط بدون تنش در بنیه بذر به میزان قابل توجهی (٪۶۷) بهبود پیدا نمود. در سطح تنش شوری ۴ دسی زیمنس بر متر، بنیه بذر پرایم نشده (۳۹) حدود (٪۸۷) در مقایسه با بذرهای پرایم نشده (۳۳۰) کاهش یافت.

بیشترین بنیه بذر در تیمار پرایمینگ و عدم وجود تنش شوری به میزان (۳۳۷/۸۹) مشاهده شد. در بین تیمارهای بدون پرایمینگ در شوری معادل ۸ دسی زیمنس بر متر، دیگر جوانه‌زنی مشاهده نشد و بنیه بذر به شدت پس از قرار گرفتن در معرض ۴ دسی زیمنس بر متر کاهش یافت، اما بذرهای پرایم شده در شرایط تنش شری برای ۱۶ دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شرایط بدون تنش، کاهش ٪۷۳ درصدی در بنیه بذر را نشان دادند (شکل ۶).



شکل ۶- اثرمتقابل پرایمینگ و تنش شوری بر بنیه بذر فلوس

Figure 6- Interaction effect of seed priming and salinity stress on Cassia seed vigor
Similar letters are indicators of no significant difference

استفاده از ترکیبات تنظیم کننده رشد گیاهی سبب افزایش بنیه بذر در مقابله با تنش شوری می‌شود. برای نمونه در مطالعه‌ای استفاده از ساسیلیک اسید سبب افزایش معنی‌دار تحمل به تنش شوری در گیاه‌چه‌های سویا شد (Yücel *et al.,* 2016). جیبرلین هورمونی است که در کنترل بسیاری از مراحل رشد و نمو گیاه مانند جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، بلند شدن ساقه‌چه و توسعه ریشه نقش دارد (García-Martínez *et al*., 1997; Yamaguchi, 2008; Hedden and Thomas, 2012). تنش شوری بر میزان بیان ژن‌ها تولید کننده جیبرلین تأثیر منفی می‌گذارد و از رشد گیاه جلوگیری می‌کند (Fleet and Sun, 2005; Vishal and Kumar, 2018). به‌نظر می‌رسد استفاده از هورمون جیبرلین در پرایمینگ بذر اثر منفی تنش شوری بر میزان جیبرلین بذرهای فلوس را تا حدی جبران نموده و سبب افزایش رشد و جوانه‌زنی بذر و نهایتا بنیه آن شده است.

نتیجه‌گیری

تیمار پرایمینگ هورمونی با استفاده از جیبرلین ۵۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۱۲ ساعت، شاخص جوانه‌زنی، رشد گیاه‌چه و بنیه بذر فلوس را افزایش می‌دهد و توانایی این گیاه را در مواجه با شرایط تنش شوری نیز بطور قابل توجهی افزایش می‌دهد. بذر فلوس بسیاری از شاخص‌های جوانه‌زنی خود را در شوری فراتر از ۸ دسی زیمنس بر متر از دست می‌دهد و تیمار پرایمینگ بذر می‌تواند بطور موثری این کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی را کنترل کرده و تحمل به تنش را در مرحله ابتدایی رشد تا تا شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر را به راحتی تحمل نماید و حتی در شوری معادل ۲۰ دسی زیمنس بر متر هم جوانه‌زنی و رشد گیاهچه داشته باشد.

منابع

Reference

Ahmad, F.A., A. Kamal, F. Singh, F. Ashfaque, F. Alamri, S.M.H. Siddiqui, and M.I.R Khan. 2021. Seed priming with gibberellic acid induces high salinity tolerance in Pisum sativum through antioxidants, secondary metabolites and up-regulation of antiporter genes. Plant Biol. 23:113-121.

Arora. N.K., 2019. Impact of climate change on agriculture production and its sustainable solutions. J. Environ. Sustain. 2: 95-96.

Atici, O., G. Agar, and P. Battal. 2003. Interaction between endogenous plant hormones and alpha-amylase in germinating chickpea seeds under cadmium exposure. Fresenius Environ. Bull., 12: 781-785.

Bala. S., U.K. Varshney, and A. Kumari. 2018. Effect of chloride and sulphate dominated salinity on minerals constituents of senna (*cassia angustifolia* vahl.). J. Plant Dev. 10:127-131.

Banerjee A., and A. Roychoudhury. 2018. Seed priming technology in the amelioration of salinity stress in plants. Pp 81-93. In A. Rakshi, and H.B. Singh (eds.) Advances in seed priming. Springer, Singapore.

Becerra-Vázquez, Á.G., R. Coates, S. Sánchez-Nieto, R. Reyes-Chilpa, and A. Orozco-Segovia. 2020. Effects of seed priming on germination and seedling growth of desiccation-sensitive seeds from Mexican tropical rainforest. J. Plant Res. 133: 855-872.

Bradford, K.J., J.J. Steiner, and S.E. Trawatha. 1990. Seed priming influence on germination and emergence of peper seed lots. Crop Sci. 30: 718-721.

Chen, X., R. Zhang, Y. Xing, B. Jiang, B. Li, X. Xu, and Y. Zhou. 2021. The efficacy of different seed priming agents for promoting sorghum germination under salt stress. PloS one, 16(1). p.e0245505.

Corwin, D.L. 2021. Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas. Eur. J. Soil Sci. 72: 842-862.

Danish, M., P. Singh, G. Mishra, S. Srivastava, K.K. Jha, and R.J. Khosa. 2011. Cassia fistula Linn. (Amulthus)-An important medicinal plant: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacological properties. J Nat. Prod Plant Resour. 1: 101-118.

Das, K., and A. Roychoudhury. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Front. Environ. Sci. 2: 53.

Digirolamo, G., and L. Barbanti. 2012. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. Ital. J. Agron. 7: 25.

Ebrahimi, E. 2021. Strategies to improve germination of Cassia fistula seeds and reduce its germination response to salinity stress. Master thesis. Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan. Mollasani. Iran.

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

Fathizad, H., M.A.H. Ardakani, H. Sodaiezadeh, R. Kerry, and R. Taghizadeh-Mehrjardi. 2020. Investigation of the spatial and temporal variation of soil salinity using random forests in the central desert of Iran. Geoderma. 365: 114233.

França-Neto, J.D.B., and F.C. Krzyzanowski. 2019. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. J. Seed Sci. 41: 359-366.

Gratão, P.L., A. Polle, P.J. Lea, and R.A. Azevedo. 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Funct. Plant Biol. 32: 481-494.

Hameed, A., M.Z. Ahmed, T. Hussain, I. Aziz, N. Ahmad, B. Gul, and B.L. Nielsen. 2021. Effects of Salinity Stress on Chloroplast Structure and Function. Cells. 10: 2023-2045.

Hardikar, S. A., and A.N. Pandey. 2011. Growth, water status and nutrient accumulation of seedlings of *Cassia fistula* L. in response to soil salinity. Anales de biología. 33: 1-11.

Ibrahim, E.A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. J. Plant Physiol. 192: 38-46.

International Seed Testing Association. 2017. International rules for seed testing. Rules. Zürichstr. Bassersdorf, Switzerland.

Isayenkov Stanislav, V., and J.M. Frans Maathuis. 2019. Plant salinity stress: many unanswered questions remain. Front. Plant Sci. 10: 1-11.

Jiménez-Alfaro, B., F.A. Silveira, A. Fidelis, P. Poschlod, and L.E. Commander. 2016. Seed germination traits can contribute better to plant community ecology. J. Veg. Sci. 27: 637-645.

Jisha, K.C., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiol. Plant. 35:1381-1396.

Khayamim, S., R. Tavakol Afshari, S.Y. Sadeghian, K. Poustini, F. Roozbeh, and Z. Abbasi. 2014. Seed germination, plant establishment, and yield of sugar beet genotypes under salinity stress. J. Agric. Sci. Technol. 16:779-790.

Lamichhane, J.R., P. Debaeke, C. Steinberg, M.P. You, M.J. Barbetti, and J.N. Aubertot. 2018. Abiotic and biotic factors affecting crop seed germination and seedling emergence: a conceptual framework. Plant and Soil. 432. 1-28.

Leist, N., S. Krämer, and A. Jonitz. 2003. ISTA working sheets on tetrazolium testing. International Seed Testing Association.

Li, Z., G.Y. Lu, X.K. Zhang, X.S. Zou, Y. Cheng, and P.Y. Zheng. 2010. Improving drought tolerance of germinating seeds by exogenous application of gibberellic acid (GA3) in rapeseed (*Brassica napus* L.). Seed Sci and Technol. 38: 432-440.

Loutfy, N., Y. Sakuma, D.K. Gupta, and M. Inouhe. 2020. Modifications of water status, growth rate and antioxidant system in two wheat cultivars as affected by salinity stress and salicylic acid. J. Plant Res.133: 549-570.

Maguire, M.P. 1962. Variability in length and arm ratio of the pachytene chromosomes of corn. Cytologia. 27: 248-257.

Moula, I., O. Boussadia, G. Koubouris, M.B. Hassine, W. Boussetta, M.C. Van Labeke, and M. Braham. 2020. Ecophysiological and biochemical aspects of olive tree (*Olea europaea* L.) in response to salt stress and gibberellic acid-induced alleviation. S. Afr. J. Bot. 132: 38-44.

Parihar, P., S. Singh, R. Singh, V.P. Singh, and S.M. Prasad. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. Environ. Sci. Pollut. Res. 22: 4056-4075.

Pawar, A.V., and S.G. Killedar. 2017. Uses of *Cassia fistula* Linn as a medicinal plant. Int. J. Adv. Res. Dev. 2:85-91.

Rahimi, A. 2013. Seed priming improves the germination performance of cumin (*Cuminum syminum* L.) under temperature and water stress. Ind. Crops Prod. 42: 454-460.

Raven, P.H., and D.L. Wagner. 2021. Agricultural intensification and climate change are rapidly decreasing insect biodiversity. Proc. Natl. Acad. Sci. 118:1-6.

Roychoudhury, A., and M. Chakraborty. 2013. Biochemical and molecular basis of varietal difference in plant salt tolerance. Annu. Res. Rev. Biol.3: 422-454.

Saeed, T., A. Shahzad, and S. Sharma. 2020. Studies on single and double layered biocompatible encapsulation of somatic embryos in Albizia lebbeck and genetic homogeneity apraisal among synseed derived lines through ISSR markers. Plant Cell Tissue Organ. 140: 431-445.

Sauer, D.B., and R. Burroughs. 1986. Disinfection of seed surfaces with sodium hypochlorite. Phytopathol. 76: 745-749.

Scott, S.J., R.A. Jones, and W. Williams. 1984. Review of data analysis methods for seed germination 1. Crop Sci. 24: 1192-1199.

Seethalakshmi, S., R. Umarani, and M. Djanaguiraman. 2022. Gibberellic acid biosynthesis during dehydration phase of priming increases seed vigour of tomato. Plant Growth Regul. 97: 1-8.

Shah, T., S. Latif, F. Saeed, I. Ali, S. Ullah, A.A. Alsahli, S. Jan, and P. Ahmad. 2021. Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. J. King Saud Univ. Sci. 33: 1-8.

Singh, H., R.K. Jassal, J.S. Kang, S.S. Sandhu, H. Kangand, and K. Grewal. 2015. Seed priming techniques in field crops-A review. Agric. Rev. 36(4): 251-264.

Sisodia, A., M. Padhi, A.K. Pal., K. Barman, and A.K. Singh. 2018. Seed priming on germination, growth and flowering in flowers and ornamental trees. Pp 263-288. In A. Rakshi, and H.B. Singh (eds.) Advances in Seed Priming. Springer, Singapore.

Soltani, E., F. Ghaderi-Far, C. Baskin, and J.M. Baskin. 2015. Problems with using mean germination time to calculate rate of seed germination. Aust. J. Bot. 63: 631-635.

Tiwari, T.N., and D.K. Agarwal. 2021. The effect of seed priming in chickpea under sodic soil. Legum. Res. 34: 99-104.

Tsegay, B.A., and B. Gebreslassie. 2014. The effect of salinity (NaCl) on germination and early seedling growth of *Lathyrus sativus* and *Pisum sativum* var. abyssinicum. Afr. J. Plant Sci. 8: 225-231.

Uçarlı, C., 2020. Effects of salinity on seed germination and early seedling stage. P. 211-232. In Wang, D. Y. Chen. S. Saud. C. Wu. S. Fahad (ed.) Abiotic Stress in Plants. Springer.

Vishal, B., and P.P. Kumar. 2018. Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. Front. Plant Sci. 9:1-15.

Waqas, M., N.E. Korres, M.D. Khan, A.S. Nizami, F. Deeba. I. Ali, and H. Hussain. 2019. Advances in the concept and methods of seed priming. Pp 11-41. In M. Waqas, N. E. Korres, M.D. Khan, A.S. Nizami, F. Deeba, I. Ali, and H. Hussain (eds.) Priming and pretreatment of seeds and seedlings. Springer, Singapore.

Yücel, N.C., and E. Heybet. 2016. Salicylic acid and calcium treatments improves wheat vigor, lipids and phenolics under high salinity. Acta Chim. Slov. 63:738-746.

Zhang, S., J. Hu, Y. Zhang, X.J. Xie, and A. Knap. 2007. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. Aust. J. Agric. Res. 58: 811-815.