2024, 13 (3), 39-52 https://doi.org/10.22092/ijsst.2023.362439.1485

Seed Science Society of Iran

Seed and Plant Certification and Registration Institute

Iranian Journal of
Seed Science and Technology

ISSN: 2588-4638

*Research Article*

# Investigating the effect of putrescine and salinity stress on some germination indices of Henna seeds (South Kerman's Native)

**Abolghasem Hamidi Moghaddam**[1*]

1. Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft. Jiroft. Iran

## Article Information

Received: 30 May. 2023
Revised: 14 Jul. 2023
Accepted: 15 Aug. 2023

**Keywords:**
Germination percentage,
Polyamine,
Salinity tolerance,
Seed vigor index

Corresponding Author:
h_moghaddam@ujiroft.ac.ir

## Abstract

Henna (*Lawsonia inermis* L.) is an ornamental and medicinal plant containing Lawson's active substance, which is cultivated in some regions of the south and southeast of Iran. Salinity is one of the major abiotic environmental stress that affects almost all stages of plant development such as germination, vegetative growth and reproductive development. Polyamines such as putrescine can play important roles in plant growth and stress responses. In order to investigate the effect of putrescine and NaCl salinity stress on some germination indices of Henna seeds, a factorial experiment was conducted with two levels of putrescine (0 and 0.75 mM) and four NaCl salinity levels (0, 50, 100 and 150 mM) based on completely randomized design with four replications in germinator for 11 days. The results showed that at control salinity level, there was no significant difference between putrescine treatments on Henna seed germination indices except the seed vigor index. The interaction between putrescine (0.75 mM) and salinity stress showed that pre-treatment with putrescine alleviated the negative effects of 50 and 100 mM NaCl salinity stress on the germination rate of Henna seeds. However, it increased the negative effects of 150 mM salinity stress on germination percentage, radicle length, plumule length, seedling fresh weight, seed vigor index and α-amylase activity in comparison to control. The results showed that germination of Henna seeds is sensitive to salinity stress and they are only able to tolerate low levels of salinity (50 mM). According to a significant correlation between α-amylase activity with germination percentage (r= 0/98), it can be concluded that probably the change in α-amylase activity decreased the germination percentage of Henna seeds.

**How to cite this paper:** Hamidi Moghaddam, A. (2024). Investigating the effect of putrescine and salinity stress on some germination indices of Henna seeds (South Kerman's native). Iranian Journal of Seed Science and Technology, 13 (3), 39-52. https://doi.org/10.22092/ijsst.2023.362439.1485

© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

**EXTENDED ABSTRACT**

**Introduction**

Henna (*Lawsonia inermis* L.) is a medicinal shrub containing various active substances such as phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, terpenoids, quinones, coumarins, tannins, and Lawson's (2-hydroxy-1, 4-naphthoqunone). Various parts of the henna plant, including leaves, flowers, seeds, stem bark, and roots, are used in traditional medicine to treat conditions such as rheumatoid arthritis, headache, ulcers, diarrheoa, leprosy, fever, cardiac disease, diabetes, and as a coloring agent for more than 9000 years. It is also cultivated as an ornamental or hedge plant in landscapes space of tropical and subtropical regions. Seed germination and seedling growth are crucial for crop establishment and are sensitive to abiotic stress such as salinity, which is one of the major environmental stressors affecting almost all stages of plant development. Salinity at low concentrations induces seed dormancy and reduces germination rates, while at high concentrations inhibits germination and decreases percentages. However, different methods, like seed priming with putrescine (Put) or other polyamines (PAs), can improve seed germination under salinity conditions by affecting membrane permeability, boosting antioxidant capacity, regulating enzyme function, accelerating starch degradation, and changing the biosynthesis of some phytohormones such as abscisic acid, gibberellins, etc. Nevertheless, the impact of PAs on henna seed germination under salinity stress remained unknown. The aim of this study was to examine how Put impacts henna seed germination in the presence of salinity stress and its correlation with α-amylase activity in the process of henna seed germination.

**Materials and methods**

A factorial experiment was conducted with four replications using a Completely Randomized design to assess the impact of Put and salinity stress on some germination indices of henna seeds in a germinator. Henna seeds were sterilized using a 10% sodium hypochlorite solution for 1 minute before being subjected to treatment with 0 (distilled water was used) and 75 mM of Put in darkness at 25°C for 24 hours with aeration. Following the priming treatment, the seeds were rinsed with distilled water and then air-dried on filter paper at room temperature for 24 hours. In order to induce salinity stress, both primed and un-primed seeds (25 seeds per replicate) were arranged in Petri dishes on a double layer of Whatman No. 1 filter paper and treated with equal amounts of 0, 50, 100, and 150 mM NaCl solutions added. Following that, they were moved to the germinator set at 27°C, with 8 h light/16 h dark, along with a relative humidity of 75%. Daily evaluations were made to record seed germination until no more germination was observed (over an 11-day period). Following the completion of the experiment, various germination indicators were assessed including germination percentage, germination rate, seed vigor index, allometric coefficient, α-amylase activity, radicle and plumule length, and fresh weight of both.

**Results and Discussion**

Results showed that all traits assessed in this study were negatively affected when the salinity level was increased. On the other hand, at the control level of salinity, there was no significant difference between Put treatments on Henna seed germination indices except for the seed vigor index, which decreased by 12.6%. The interaction between Put (0.75 mM) and salinity stress showed that pre-treatment with Put alleviated the negative effects of 50 and 100 mM NaCl salinity stress on the germination rate of henna seeds. Nevertheless, it increased the negative effects of 150 mM salinity stress on germination percentage, radicle and plumule length, seedling fresh weight, and seed vigor index in comparison to control. Conversely, both Put and NaCl salinity treatments resulted in a notable rise in allometric coefficient. However, the α-amylase activity decreased significantly when the salinity stress levels reached 100 and 150 mM. The interaction between Put and salinity stress indicated that treating with Put (0.75 mM) resulted in a 41.9% decrease in enzyme activity under 150 mM salinity stress in comparison to the control. It is generally known that salinity stress impacts seed germination by causing osmotic stress, ion-specific effects, and oxidative stress. Increased external osmotic potential reduces water uptake during seed imbibition. Furthermore, it has been stated that the viability of seed embryos can be impacted by the toxic effects of sodium and chloride ions, thus affecting seed germination. Alternatively, an increase in the allometric coefficient of henna seedlings under NaCl salt stress may suggest a heightened sensitivity of the roots to sodium and chlorine ions. The negative effect of Put on seed germination parameters of henna in this research might be a result of elevated hydrogen peroxide levels due to PAs catabolism. Reports indicate that PAs can play a complex role in stressed plants, and the varied responses of plants to them are probably due to factors such as the type and timing of stress, plant species, and the method of PAs pretreatment in terms of quantity and duration.

**Conclusion**

The findings revealed that germination of henna seeds is sensitive to salinity stress, and they are only able to tolerate low levels of salinity (50 mM). Although, the germination rate of henna seeds under 50 and 100 mM salinity stress levels was enhanced by pretreating with 0.75 mM Put, it exacerbated the adverse impacts of 150 mM salinity stress on other germination parameters. According to a significant correlation between α-amylase activity with germination percentage (r= 0.98), it can be concluded that probably the change in α-amylase activity decreased the germination percentage of henna seeds.

دوره ۱۳، شماره ۳، صفحات ۵۲-۳۹ https://doi.org/10.22092/ijsst.2023.362439.1485

نشریه علوم و فناوری بذر ایران

ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

# بررسی اثر پوترسین و تنش شوری بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذور حنا (توده بومی جنوب کرمان)

**ابوالقاسم حمیدی‌مقدم[1]***

۱. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

## چکیده

حنا (*Lawsonia inermis* L.) درختچه‌ای زینتی و دارویی، حاوی ماده موثره لاوسون بوده که در برخی از مناطق جنوب و جنوب شرق ایران کشت می‌شود. تنش شوری یکی از عمده‌ترین تنش‌های محیطی غیر زیستی است که تمام مراحل رشد و نمو گیاه را از جوانه‌زنی بذر، رشد رویشی تا نمو زایشی تحت تاثیر قرار می‌دهد. پلی‌آمین‌ها از جمله پوترسین می‌توانند نقش مهمی در رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش ایفا کنند. به منظور بررسی تاثیر پوترسین و تنش شوری NaCl بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذور حنا، یک آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در ژرمیناتور به مدت ۱۱ روز اجرا شد. فاکتور اول سطوح پوترسین (صفر و ۰/۷۵ میلی‌مولار) و فاکتور دوم شامل چهار سطح تنش شوری صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) بود. نتایج نشان داد میان تیمارهای پوترسین اختلاف معنی‌داری در سطح شوری شاهد بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور حنا به غیر از شاخص بنیه بذر وجود ندارند. اگرچه برهمکنش پوترسین (۰/۷۵ میلی‌مولار) در تنش شوری سبب کاهش آثار منفی تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl بر سرعت جوانه‌زنی بذر حنا شد، ولی سبب تشدید آثار منفی تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر گیاهچه، شاخص بنیه بذر و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در مقابسه با شاهد شد. نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بذور حنا حساس به تنش شوری است و تنها قادر به تحمل سطوح پایین تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) می‌باشند. با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و درصد جوانه‌زنی (r=0.98)، می‌توان استنباط کرد که احتمالاً تغییر در فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز سبب کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای حنا شده است.

## اطلاعات مقاله

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۲/۰۳/۰۹

**تاریخ بازنگری:** ۱۴۰۲/۰۴/۲۳

**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۵/۲۴

**واژه‌های کلیدی:**

بنیه بذر،

پلی‌آمین،

تحمل به شوری،

درصد جوانه‌زنی

**نویسنده مسئول:**

h_moghaddam@ujiroft.ac.ir

**نحوه استناد به این مقاله:** Hamidi Moghaddam, A. (2024). Investigating the effect of putrescine and salinity stress on some germination indices of Henna seeds (South Kerman's native). Iranian Journal of Seed Science and Technology, 13 (3), 39-52. https://doi.org/10.22092/ijsst.2023.362439.1485

**مقدمه**

حنا (*Lawsonia inermis* L.) درختچه‌ای دارویی متعلق به خانواده Lythraceae و حاوی ماده موثره لاوسون (Lawsone) یا ۲- هیدروکسی - ۱، ۴ - نفتاکینون است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، مسکن، ضد التهاب، آنتی‌بیوتیک، ضد قارچ، ضد باروری، ضد سرطان و غیره می‌باشد و در فضای سبز نیز از آن بعنوان پرچین استفاده می‌شود (Lal et al. 2007; Chaudhary et al. 2010; Varghese et al. 2010). بذرهای آن کوچک، هرمی شکل، دارای اندوسپرم و جنین خطی بوده بطوریکه قسمت اعظم بذر را اندوسپرم در بر می‌گیرد، وزن هزار دانه آن ۸۰۰ تا ۹۰۰ میلی‌گرم می‌باشد و پوسته آن به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد و سرشار از لاوسون است (Parihar et al. 2016; Sarhadi et al. 2016). بذرها دارای رکود بوده و درصد جوانه‌زنی آن کمتر از ۲۰ درصد گزارش شده است (Shuba et al. 2018; Ambika et al. 2019). این گیاه در مناطق گرم جنوب و جنوب شرق ایران به خصوص در کرمان، سیستان و بلوچستان، هرمزگان و برخی از نواحی دیگر کشت می‌شود. حنا گیاهی حساس به سرماست بطوریکه در دمای کمتر از پنج درجه سانتی‌گراد از بین می‌رود در حالیکه درجه حرارت بالا را تحمل می‌کند، بطوریکه حداکثر لاوسون در دمای ۳۵ تا ۴۵ درجه‌سانتی‌گراد ساخته می‌شود. همچنین بذر آن برای جوانه‌زنی به دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد نیاز دارد (Singh et al. 2015; Najar et al. 2020). حنا اگرچه در مرحله جوانه‌زنی به تنش خشکی نسبتاً حساس است (Enneb & Mohammad Ayaz, 2016) ولی گیاهان بالغ نسبتاً متحمل به خشکی (Enneb et al. 2016; Sarhadi et al. 2016) و شوری (Fernández-García et al. 2014; Farahbakhsh et al. 2017; Najar et al. 2020) هستند.

گیاهان در طول دوره زندگی خود با انواع تنش‌های محیطی از جمله شوری که از مهمترین تنش‌های محیطی است مواجه می‌شوند. تنش شوری کلیه مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی بذر تا تولید ماده خشک را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Parida et al. 2004). حساسیت به شوری به مرحله نموی ارتباط دارد بطوریکه حساس‌ترین مرحله آن در زمان جوانه‌زنی و نمو اولیه گیاه است (Borromeo et al. 2023). شوری از طریق تنش اسمزی، اثرات خاص یون، تنش اکسیداتیو، تغییر در حرکت مواد ذخیره و همچنین تاثیر بر روی ساختار پروتئین‌ها منجر به تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مضری بر جوانه‌زنی بذر می‌شود (Ibrahim, 2016). تنش شوری سبب کاهش در صد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذر و فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در برخی از گیاهان از جمله شابیزک (*Atropa belladonna*)، وسمه (*Indigofera tinctoria*)، کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *styriaka*)، بابونه آلمانی (*Chamomilla recutita*)، مرزنگوش (*Origanum majorana*)، کلم پیچ (*Brassica oleraceae* L. cv Yalova-F1)، نیلوفر آبی (*Nymphaea immutabilis* L.) و آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) شده است (Ali, 2000; Ali et al. 2009; Orhan et al. 2020; Dalziell et al. 2020; Noroozisharaf et al. 2021; Farsaraei et al. 2021; Bahrasemani et al. 2023). به منظور کاهش اثر تنش‌های محیطی از جمله خشکی و شوری بر جوانه‌زنی بذر و همچنین استقرار گیاهچه استفاده از غلظت‌های مختلف هورمون‌ها و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بعنوان پیش تیمار توصیه شده است. بطوریکه این تیمارها علاوه بر اینکه از ساده‌ترین و ارزان‌ترین راهکارها جهت بهبود جوانه‌زنی بذر هستند، قادرند تحمل گیاه را به شرایط نامساعد محیطی افزایش داده و صدمات ناشی از عوامل تنش‌زا را کاهش دهند (Srivastava et al. 2010; Ibrahim, 2016). پلی‌آمین‌ها (Polyamines) بازهای نیتروژن آلیفاتیک با وزن مولکولی کم و حاوی دو یا چند گروه آمین هستند و به عنوان نوع جدیدی از محرک‌های زیستی گیاهی در نظر گرفته می‌شوند. در گیاهان عالی، پوترسین (دی آمین)، اسپرمیدین (تری آمین) و اسپرمین (تترا آمین) از اصلی‌ترین پلی‌آمین‌ها بوده و عمدتاً به صورت آزاد وجود دارند و در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی متنوع از جمله نمو گل، جنین‌زایی، اندام‌زایی، پیری، بلوغ و نمو میوه و همچنین در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارند (Reis et al. 2016; Mustafavi et al. 2018, Chen et al. 2019). امروزه با توسعه تکنیک‌های زیست‌فناوری و مولکولی، شواهد فزاینده‌ای در خصوص تاثیر مثبت پلی‌آمین‌ها، چه به صورت

برون‌زا یا درون‌زا از طریق مهندسی ژنتیک، بر رشد گیاه، بهره‌وری و تحمل به تنش‌های محیطی از جمله دماهای پایین و بالا، خشکی، شوری، عناصر سنگین، پرتو فرا بنفش و غیره بدست آمده است (Chen et al. 2019; Borromeo et al. 2023). بیان شده است پرایمینگ بذر با پلی‌آمین‌ها نه‌تنها سبب ایجاد سمیت نمی‌شود بلکه سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها می‌شود (Borromeo et al. 2023)، بهرحال گزارش‌های متعددی در خصوص پیش‌تیمار بذر گیاهان با غلظت‌های متفاوت پوترسین و بروز پاسخ‌های متفاوت نسبت به تنش شوری وجود دارد. بطوریکه پیش تیمار بذور کدوی پوست کاغذی (Farsaraei et al. 2021)، کلم پیچ (Orhan et al. 2020) و وسمه (Bahrasemani et al. 2023) با غلظت یک میلی‌مولار پوترسین سبب کاهش آثار منفی تنش شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شد. در شابیزک (Ali, 2000) پیش‌تیمار بذر با پوترسین به غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار و در بابونه آلمانی و مرزنگوش (Ali et al. 2009) پیش‌تیمار پوترسین و اسپرمیدین با غلظت‌های مختلف (۰/۰۱ تا پنج میلی‌مولار) سبب بهبود درصد جوانه‌زنی و افزایش وزن‌تر و خشک گیاهچه‌ها تحت سطوح مختلف تنش شوری شد. در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) نیز پیش‌تیمار بذر با پوترسین به غلظت ۲/۵ میلی‌مولار سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و تحمل به تنش شوری شد (Borromeo et al. 2023). از سوی دیگر شواهدی نیز مبنی بر آثار منفی پوترسین با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticum aestivum* L.) و همچنین پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ماش (*Vigna radiate* L.) وجود دارد (Yang et al. 2016; Suchak & Pandya, 2020). اگرچه به طور کامل مشخص نشده است که پلی‌آمین‌ها چگونه رشد و پاسخ گیاه به تنش‌ها را تنظیم می‌کنند، ولی این احتمال وجود دارد که پرایمینگ بذر با پلی‌آمین‌ها منجر به افزایش متابولیسم نشاسته از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آلفا و بتا آمیلاز، افزایش سطح هورمون‌ها، غلظت قندهای محلول و تجمع اسمولیت‌ها در طی جوانه‌زنی می‌شود (Li et al. 2014; Yang et al. 2016; Chen et al. 2019; Alcázar et al. 2020). با توجه به جایگاه اقتصادی ویژه حنا در بین کشاورزان، افزایش روز افزون وسعت زمین‌های شور، کمبود منابع آب شیرین و از سوی تاکنون در خصوص اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر حنا مطالعه‌ای انجام نشده است، بنابراین به منظور ارزیابی تاثیر سطوح مختلف تنش شوری بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذر حنا و برهمکنش آن با پیش‌تیمار پوترسین این پژوهش انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی اثر پوترسین و همچنین تنش شوری بر جوانه‌زنی بذر حنا، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. سطوح فاکتور اول سطوح پوترسین (صفر و ۰/۷۵ میلی مولار) و فاکتور دوم شامل چهار سطح تنش شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) بود. بذور مورد استفاده در این پژوهش حاصل از بذور جمع‌آوری شده از یک توده زراعی بومی منطقه جنوب کرمان در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت بود. بذور ابتدا با محلول هیپوکلریت سدیم (۱۰ درصد) به‌مدت یک دقیقه گندزدایی و سپس با آب مقطر شستشو داده شد. سپس بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب جاری جهت برطرف شدن رکود خیسانده شدند (Hamidi Moghaddam, 2022). جهت اعمال تیمار پوترسین به پتری‌دیش های حاوی بذور حنا محلول پوترسین (۰/۷۵ میلی مولار) و آب مقطر (شاهد) اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار گرفتند (Khan et al. 2012). پس از آن بذرها سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند و جهت خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد (Farsaraei et al. 2021). برای اعمال تیمار تنش شوری به بذور قرار گرفته (۲۵ عدد) داخل پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی واتمن به مقدار یکسان از محلول‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl اضافه شد. سپس کلیه آنها در دستگاه ژرمیناتور تحت شرایط روشنایی و تاریکی به ترتیب برابر با ۸ و ۱۶ ساعت، دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت‌نسبی ۷۵ ٪ قرار داده شدند (Marzougui et al. 2018; Ambika et al. 2019; Hamidi Moghaddam, 2022). معیار جوانه‌زنی خروج ریشه‌چه به مقدار دو میلی‌متر در نظر گرفته شد و شمارش بذور جوانه‌زده در هر

پتری‌دیش بصورت روزانه تا روز یازدهم، هنگامی که در تعداد بذرهای جوانه‌زده تغییری مشاهده نشد ادامه یافت. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی بذور، شاخص بنیه بذر و ضریب آلومتری از رابطه‌های جدول ۱ استفاده شد (Abdul baki & Anderson, 1973; ISTA, 1979; Hartman et al. 1990). جهت استخراج عصاره آنزیمی ۲۰۰ میلی‌گرم از بذور هر تکرار (Li et al. 2014) که به مدت ۲۴ ساعت در شرایط جوانه‌زنی قرار داشت توزین و با استفاده از نیتروژن مایع کاملاً خرد و به هر یک ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ میلی‌مولار (pH,۷/۲) اضافه و کاملاً یکنواخت شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد (Dehghanpour Farashah et al. 2011). جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز از مایع رویی استفاده شد. برای غیر فعال سازی آنزیم بتا آمیلاز عصاره‌های حاصل در حمام آب‌گرم (دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. پس از آن ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به ۵۰۰ میکرولیتر محلول نشاسته یک درصد افزوده و پس از ورتکس به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۵ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با افزودن ۵۰۰ میکرولیتر معرف دی‌نیترو سالیسیک اسید (3, 5 Dinitrosalicylic Acid) به مخلوط و قرار دادن آن در حمام آب‌گرم (دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۵ دقیقه واکنش متوقف شد. پس از سرد شدن مخلوط واکنش، شدت جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد (Adda et al. 2014). در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد مالتوز میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز برآورد و بر اساس میکرومول مالتوز بر گرم وزن‌تر بیان شد.

داده‌های حاصل از درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر به روش تبدیل زاویه‌ای $\text{Arcsin}\sqrt{X/100}$ و Log تبدیل شدند اما مقادیر واقعی آنها در متن نشان داده شده است. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار JMP (SAS Institute Cary, NC) نسخه ۱۷ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (HSD) در سطح ۵٪ انجام شد.

جدول ۱- روابط محاسباتی شاخص‌های جوانه‌زنی

Table 1- Equation of germination indices

| شماره رابطه<br>Equation number | شاخص<br>Index | رابطه<br>Equation |
|---|---|---|
| ۱ | درصد جوانه‌زنی<br>Germination percentage | $GP = \frac{\sum G}{N} \times 100$ |
| ۲ | سرعت جوانه‌زنی<br>Germination rate | $GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$ |
| ۳ | شاخص بنیه بذر<br>Seed vigor index | SVI=(PL+RL)×GP |
| ۴ | ضریب آلومتری<br>Allometric Coefficient | $CA = \frac{PL}{RL}$ |

G: تعداد بذرهای جوانه‌زده، N: تعداد کل بذرها، $S_i$: تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش، $D_i$: تعداد روز تا شمارش n ام، RL: طول ریشه‌چه، PL: طول ساقه‌چه

G= Number of Total Germinated Seeds, N= Total number of seeds, Si=The number of germination seeds per count, Di=The number of days until the $n_{th}$ count, PL= Plumule length, RL= Radicle length

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) که تیمار پوترسین به غیر از صفت ضریب آلومتری بر سایر شاخص‌ها در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری دارد. همچنین سطوح مختلف تنش شوری بر همه شاخص‌ها مورد ارزیابی در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت. در حالیکه برهمکنش پوترسین با تنش شوری بر شاخص‌های در صد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن‌تر گیاهچه، طول ریشه‌چه و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در سطح احتمال پنج در صد و بر شاخص بنیه بذر، طول ساقه‌چه و ضریب آلومتری در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت.

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر حنا (*Lawsonia inermis* L.) تحت سطوح مختلف پوترسین و تنش شوری

Table 2- Analysis of variance of some germination indices of Henna seeds (*Lawsonia inermis* L.) under different levels of putrescine and salinity stress

| منابع تغییرات S.O.V. | درجه آزادی D.F. | درصد جوانه‌زنی Germination percentage | سرعت جوانه‌زنی Germination rate | طول ریشه‌چه Radicle length | طول ساقه‌چه Plumule length | شاخص بنیه بذر Seed vigor index | ضریب آلومتری Allometric Coefficient | وزن‌تر گیاهچه Seedling fresh weight | فعالیت آلفا آمیلاز α-amylase activity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| پوترسین Putrescine | 1 | 0.016$^{**}$ | 0.01$^{**}$ | 13.82$^{**}$ | 18.11$^{**}$ | 0.11$^{**}$ | 5.54$^{e7\ ns}$ | 20.72$^{**}$ | 1.95$^{**}$ |
| شوری Salinity | 3 | 0.021$^{**}$ | 0.061$^{**}$ | 176.56$^{**}$ | 171.40$^{**}$ | 0.49$^{**}$ | 0.05$^{**}$ | 34.07$^{**}$ | 2.24$^{**}$ |
| پوترسین×شوری putrescine× Salinity | 3 | 0.002$^{*}$ | 0.004$^{*}$ | 2.10$^{*}$ | 2.33$^{**}$ | 0.02$^{**}$ | 0.01$^{**}$ | 1.023$^{*}$ | 0.24$^{*}$ |
| خطا Error | 21 | 0.0004 | 0.001 | 0.63 | 0.58 | 0.001 | 0.001 | 0.33 | 0.07 |
| ضریب تغیرات C.V. (%) | | 1.073 | 4.74 | 7.30 | 6.29 | 1.08 | 2.95 | 4.85 | 7.63 |

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns are statistically significant at the probability of 1%, 5% and not significant

### درصد جوانه‌زنی

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پیش‌تیمار پوترسین بر درصد جوانه‌زنی بذر حنا در سطوح تنش شوری صفر و ۵۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد ( جدول ۳). با افزایش سطح تنش شوری به ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار بطور معنی‌داری از درصد جوانه‌زنی بذر در هر دو سطح پوتریسین کاسته شد. بطوریکه کمترین درصد جوانه زنی (۵۵ درصد) در تیمار پوتریسن ۰/۷۵ میلی‌مولار و تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). با توجه به جدول ضرایب همبستگی (جدول ۴)، درصد جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد با فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و وزن تر گیاهچه و در سطح پنج درصد با سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر داشت.

### سرعت جوانه‌زنی

مقایسه میانگین بین تیمارها، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سطوح تنش شوری صفر و ۵۰ میلی‌مولار بر سرعت جوانه‌زنی بذر حنا در غلظت صفر میلی‌مولار پوتریسین وجود ندارد (جدول ۳). برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که اعمال پیش‌تیمار پوترسین ۰/۷۵ میلی‌مولار سبب کاهش آثار منفی تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl بر سرعت جوانه‌زنی بذر حنا شد. بطوریکه اختلاف معنی‌داری بین این سطوح تنش شوری با شاهد مشاهده نشد (جدول ۳). ولی افزایش سطح شوری به ۱۵۰ میلی‌مولار سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی بذر حنا در مقایسه با شاهد شد (شکل ۱).

### طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

نتایج نشان داد که افزایش سطح تنش شوری به ۱۵۰ میلی‌مولار سبب کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه حنا در مقایسه با شاهد می‌شود (شکل ۲). برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که همه سطوح تنش شوری منجر به کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در هر دو سطح پیش‌تیمار پوترسین شدند (جدول ۳). اگرچه بین تیمارهای پوترسین تفاوت معنی‌داری در سطح شوری صفر میلی‌مولار بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه وجود نداشت، ولی پیش‌تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار پوترسین سبب کاهش ۷۴/۷ و ۶۸/۹ در صدی به‌ترتیب در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌های حنا در سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل پوترسین و تنش شوری بر برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذور حنا (*Lawsonia inermis* L.)

Table 3- Mean comparison of the interaction effect of putrescine and salinity stress on some germination indices of Henna seeds (*Lawsonia inermis* L.)

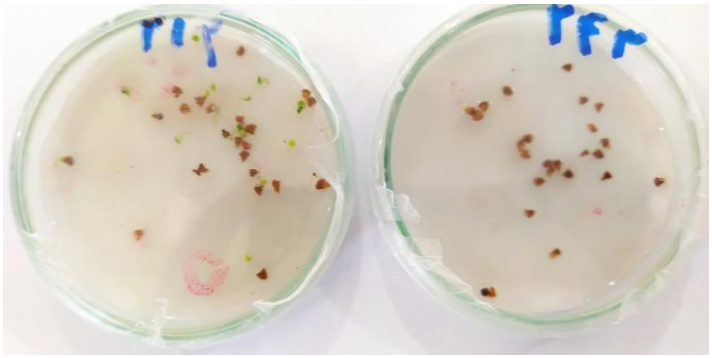
| پوترسین (میلی‌مولار) Putrescine (mM) | شوری (میلی‌مولار) Salinity (mM) | درصد جوانه‌زنی (٪) Germination percentage (%) | سرعت جوانه‌زنی Germination rate | طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm) | طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Plumule length (mm) | شاخص بنیه بذر Seed vigor index | ضریب آلومتری Allometric Coefficien | وزن‌تر گیاهچه (میلی گرم) Seedling fresh weight (mg) | فعالیت آنزیم آمیلاز (میکرومول بر گرم وزن‌تر) α-amylase activity (µ moles maltose $g^{-1}$ $min^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 81.00 a | 5.83 a | 17.18 a | 17.26 a | 2788.98 a | 1.004 e | 13.63 ab | 4.04 a |
| | 50 | 81.00 a | 5.51 a | 12.23 b | 14.93 b | 2200.44 bc | 1.221 ab | 14.02 a | 4.02 a |
| | 100 | 72.00 bc | 4.47 cd | 10.05 c | 11.77 c | 1571.21 d | 1.172 abc | 12.55 b | 3.46 bc |
| | 150 | 68.00 c | 3.98 de | 6.47 d | 7.66 d | 959.06 e | 1.184 abc | 10.03 c | 3.33 cd |
| 0.75 | 0 | 75.00 abc | 5.31 ab | 15.75 a | 16.81 a | 2438.37 b | 1.068 de | 12.85 ab | 3.79 ab |
| | 50 | 76.00 ab | 5.22 abc | 12.39 b | 14.23 b | 2021.55 c | 1.150 bc | 12.76 ab | 3.76 ab |
| | 100 | 68.00 c | 4.62 bcd | 8.18 cd | 9.21 d | 1183.26 e | 1.125 cd | 10.27 c | 2.97 d |
| | 150 | 55.00 d | 3.23 e | 4.35 e | 5.37 e | 535.97 f | 1.238 a | 7.90 d | 2.35 e |

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Different letters in each column indicate statistical differences between treatments using HSD (P≤0.05).

شکل ۲- تاثیر تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار، راست) بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه حنا در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌مولار، چپ).

Figure 2- Effect of salinity stress (150 mM, right) on radicle and plumule length of Henna seedling compared to control (0 mM, left).




شکل ۱- اثر تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار، راست) بر سرعت جوانه‌زنی بذر حنا در مقایسه با شاهد (صفر میلی‌مولار، چپ) در روز سوم آزمایش.

Figure 1- Effect of salinity stress (150 mM, right) on germination rate of Henna seeds compared to control (0 mM, left) on $3_{th}$ day of the experiment.

**وزن تر گیاهچه**

برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که میان تیمارهای پوترسین اختلاف معنی‌داری در سطوح شوری صفر و ۵۰ میلی‌مولار بر وزن تر گیاهچه حنا وجود نداشت (جدول ۳). با افزایش سطح تنش شوری به ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار بطور معنی‌داری از وزن تر گیاهچه حنا در هر دوسطح پوتریسین کاسته شد. بطوریکه کمترین وزن تر گیاهچه حنا (۷/۹ گرم) در تیمار پوتریسن ۰/۷۵ میلی‌مولار و تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). وزن تر گیاهچه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد با درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و در سطح پنج درصد با شاخص بنیه بذر داشت (جدول ۴).

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین برخی از شاخص‌های جوانه‌زنی بذر حنا تحت سطوح مختلف پوترسین و تنش شوری

Table 4- The correlation coefficient between of some germination indices of Henna seeds under different levels of putrescine and salinity stress

| صفات Traits | (1) | (2) | (3) | (4) | (5) | (6) | (7) | (8) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (1) درصد جوانه‌زنی Germination percentage | 1.00 | | | | | | | |
| (2) سرعت جوانه‌زنی Germination rate | 0.96* | 1.00 | | | | | | |
| (3) طول ساقه‌چه Plumule length | 0.90* | 0.95* | 1.00 | | | | | |
| (4) طول ریشه‌چه Radicle length | 0.86* | 0.92* | 0.98** | 1.00 | | | | |
| (5) وزن گیاهچه Seedling weight | 0.97** | 0.94** | 0.94** | 0.88* | 1.00 | | | |
| (6) ضریب آلومتری Allometric Coefficient | -0.53ns | -0.65ns | -0.67 ns | -0.78* | -0.47 ns | 1.00 | | |
| (7) شاخص بنیه بذر Seed vigor index | 0.90* | 0.95** | 0.99** | 0.99** | 0.93* | -0.70 ns | 1.00 | |
| (8) فعالیت آلفا آمیلاز α-amylase activity | 0.98** | 0.93** | 0.92** | 0.87* | 0.96** | -0.51ns | 0.92** | 1.00 |

*، ** و ns، به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns are statistically significant at the probability of 1%, 5% and not significant

**شاخص بنیه بذر**

نتایج تجزیه واریانس حاصل از داده‌ها نشان داد که پیش‌تیمار پوترسین و سطوح مختلف تنش شوری دارای اثر قابل توجه‌ای بر شاخص بنیه بذر بودند و بین آنها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد که پیش‌تیمار پوترسین (۰/۷۵ میلی‌مولار) سبب کاهش ۱۲/۶ درصدی شاخص بنیه بذر در سطح شوری شاهد (صفر میلی‌مولار) شد (جدول ۳). از سوی دیگر با افزایش سطح تنش شوری شاخص بنیه بذر در هر دو سطح پیش‌تیمار پوترسین کاهش یافت. در واقع برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که پیش‌تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار پوترسین سبب تشدید آثار منفی سطوح تنش شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl بر شاخص بنیه بذر حنا شد (جدول ۳).

**ضریب آلومتری**

برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که بین تیمارهای پوترسین اختلاف معنی‌داری در سطح شوری صفر میلی‌مولار بر ضریب آلومتری وجود نداشت، ولی همه سطوح تنش شوری منجر به افزایش ضریب آلومتری در هر دو سطح پیش تیمار پوتریسین شدند (جدول ۳). مقایسه میانگین بین تیمارها، نشان داد که پیش‌تیمار ۰/۷۵ میلی‌مولار پوترسین همراه با سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش ۲۳/۲ درصدی ضریب آلومتری مقایسه با

شاهد شد. ضریب آلومتری همبستگی منفی و معنی‌داری در سطح پنج درصد (r= -0.78) با طول ریشه‌چه داشت (جدول ۴).

**فعالیت آنزیم آلفاامیلاز**

مقایسه میانگین نشان داد که میان تیمارهای پوترسین اختلاف معنی‌داری در سطوح شوری صفر و ۵۰ میلی‌مولار بر فعالیت آنزیم آلفاامیلاز وجود نداشت (جدول ۳). با افزایش سطح تنش شوری به ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار بطور معنی‌داری از فعالیت آنزیم آلفاامیلاز در هر دو سطح پوتریسین کاسته شد. برهمکنش پوترسین در تنش شوری نشان داد که اعمال پیش‌تیمار پوترسین ۰/۷۵ میلی‌مولار سبب تشدید آثار منفی تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl شد، بطوریکه منجر به کاهش ۴۱/۹ درصدی فعالیت آنزیم آلفاامیلاز در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳).

جوانه‌زنی بذر یک مرحله حیاتی در زندگی گیاه است که نقش بسیار مهمی در استقرار گیاهچه و رشد بعدی گیاه دارد و توسط عوامل درون‌زا متعددی از جمله هورمون‌های گیاهی و همچنین شرایط محیطی تنظیم می‌شود (Liu et al. 2018). شوری از طریق عوامل مختلفی مانند تنش اسمزی، اثرات خاص یون و تنش اکسیداتیو جوانه‌زنی بذر را به تاخیر انداخته یا از آن جلوگیری می‌کند (Ibrahim, 2016). در مطالعات پیشین نیز تنش شوری سبب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر برخی از گیاهان از جمله شابیزک (Ali, 2000)، بابونه آلمانی، مرزنگوش (Ali et al. 2009)، نیلوفر آبی (Dalziell et al. 2020)، خار مریم (Hammami et al. 2020)، آویشن باغی (Noroozisharaf et al. 2021)، کدوی پوست کاغذی (Farsaraei et al. 2021)، و وسمه (Bahrasemani et al. 2023)، شده است، که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. احتمالاً تنش شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی در محیط اطراف بذر منجر به اختلال در جذب آب توسط بذور در حال جوانه‌زنی شده و سرعت فعالیت‌های متابولسیمی در زمان جوانه‌زنی و انتقال مواد غذایی به نقاط مریستمی در حال رشد گیاهچه را کاهش می‌دهد و در نتیجه از سرعت خروج ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی بذر می‌کاهد (Krishramurthy et al. 1998; Liu et al. 2018). کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه احتمالاً ناشی از اثر سمیت یون‌های سدیم و کلر و همچنین تنش اسمزی بر فرایندهای تقسیم و طویل شدن سلول می‌باشد (Mohamadi et al. 2018). این نتایج با پژوهش‌های انجام شده روی گیاهان نیلوفر آبی (Dalziell et al. 2020)، کلم پیچ (Orhan et al. 2020)، خار مریم (Hammami et al. 2020) و آویشن باغی (Noroozisharaf et al. 2021) مطابقت دارد. از سوی دیگر تغییر مسیر متابولیسمی گیاه به سمت تولید مواد آلی از قبیل سنتز اسید آمینه پرولین و تجمع املاح معدنی به منظور تنظیم اسمزی، باعث می‌شود حجم عمده انرژی بجای اینکه صرف تولید و تجمع ماده خشک شود، جهت تولید این مواد مصرف شود در نتیجه طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن‌تر گیاهچه و شاخص بنیه بذر کاهش می‌یابد (Serraj & Sinclair, 2002; Farsaraei et al. 2021). با توجه به آنکه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد بین شاخص بنیه بذر با سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و در سطح پنج درصد با درصد جوانه‌زنی و وزن تر گیاهچه مشاهده شد (جدول ۴)، می‌توان استنباط کرد که کاهش در سرعت جوانه‌زنی و پارامترهای رشدی گیاهچه حنا تحت پیش تیمار پوترسین و تنش شوری منجر به کاهش در شاخص بنیه بذر می‌شود. افزایش ضریب آلومتری در گیاهان تحت تنش شوری NaCl می‌تواند نشان دهنده حساسیت بیشتر ریشه‌چه نسبت به یون‌های سدیم و کلر باشد. در توافق با نتایج مطالعه حاضر، افزایش ضریب آلومتری در گیاهان دانسیاه (*Guizotia abyssinica*)، شبدر برسیم (*Trifolium alexandrinum* L.) و نخود (*Cicer arietinum* L.) مشاهده شد (Badalzadeh & Danesh Shahraki, 2021; Sofi et al. 2021; Elradi et al. 2022). احتمالاً شوری از طریق اثرات سمی یون‌های سدیم و کلر سبب اختلال در تنفس، سنتز پروتئین و ساختار آنزیم‌ها می‌شود و به اندامک‌های سلولی، غشای پلاسمایی و اندام‌ها آسیب وارد می‌کند (Ibrahim, 2016). وجود همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح یک درصد بین فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز با درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن‌تر گیاهچه و شاخص بنیه بذر (جدول ۴) موید این است که تنش شوری از طریق کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز سبب کاهش

معنی‌دار در شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه حنا شده است. بیان شده است که جیبرلین و اسید آبسیزیک هورمون‌های اصلی موثر در جوانه‌زنی بذر هستند که آثار کاملاً متضادی بر جوانه‌زنی دارند. در طی جوانه‌زنی بذر، جیبرلین بر تولید و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تاثیر گذاشته و سبب تجزیه نشاسته ذخیره شده به قند و تامین انرژی مورد نیاز می‌شود و همچنین جوانه‌زنی بذر را از طریق جلوگیری از فعالیت اسید آبسزیک افزایش می‌دهد (Varner, 1964; Hartman et al. 1990; Ibrahim, 2016; Liu et al. 2018). اما در شرایط تنش شوری به دلیل برهم خوردن تعادل هورمونی اسید آبسیزیک افزایش و جیبرلین کاهش می‌یابد و در نتیجه فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بواسطه کاهش بیان ژن آلفا آمیلاز تحت تاثیر قرار می‌گیرد و منجر به کاهش جوانه‌زنی بذر می‌شود (Liu et al. 2018). در پژوهش های پیشین نیز تنش شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در بذر گیاهان لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)، برنج (*Oryza sativa* L.) و کدوی پوست کاغذی شده است (Adda et al. 2014; Liu et al. 2018; Farsaraei et al. 2021) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

گزارش‌های متناقضی در خصوص افزایش یا کاهش سطح درونی پلی‌آمین‌ها در طی وقوع تنش شوری وجود دارد. در برخی از مطالعات پیشین پوترسین سبب تحریک جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و کاهش آثار مخرب تنش شوری بر بابونه آلمانی، مرزنگوش، کلم پیچ، کدوی پوست کاغذی و گوجه‌فرنگی شده است (Ali et al. 2009; Orhan et al. 2020; Farsaraei et al. 2021; Borromeo et al. 2023). از سوی دیگر، پیش‌تیمار پوترسین نه‌تنها منجر به بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهان گندم (Yang et al. 2016) و ماش (Suchak & Pandya, 2020) تحت تنش شوری نشد، بلکه سبب افزایش آثار مخرب تنش شوری بر جوانه‌زنی شد که با نتایج بدست آمده از این پژوهش مطابقت دارد.این تناقض می‌تواند نشان دهنده اثر دوگانه پل‌آمین‌ها باشد، از یک طرف کاربرد خارجی آنها با تحمل بیشتر گیاهان به تنش‌های محیطی همبستگی دارد که تا حدودی به دلیل افزایش توانایی در غیر فعال کردن رادیکال‌های اکسیداتیو مرتبط است و در مقابل، گزارش‌های وجود دارد که احتمالاً پلی‌آمین‌ها توانایی گیاهان برای مقابله با تنش را به دلیل افزایش سطح پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) ناشی از فرایند کاتابولیسم کاهش می‌دهند (Borromeo et al. 2023). بنابراین در گیاهان تحت تنش، نقش پلی‌آمین‌ها می‌تواند کاملاً پیچیده باشد و واکنش متفاوت آنها به تیمار پوترسین ممکن است به دلیل نوع تنش، زمان اعمال تنش، گونه گیاهی و همچنین نحوه اعمال پیش‌تیمار پوترسین از لحاظ میزان و مدت زمان پیش‌تیمار باشد (Ali, 2000; Suchak & Pandya, 2020). بطوریکه تجمع بیش از حد یا طولانی مدت پوترسین ممکن است سبب تسریع اکسیداسیون مواد و مسمومیت گیاه شود (Yang et al. 2016). علاوه بر این بیان شده است اگر چه پیش‌تیمار بذر گندم با پلی‌آمین ها در میزان جیبرلین و زآتین تغییری ایجاد نمی‌کند ولی بطور معنی‌داری سبب افزایش قابل توجه میزان اسید آبسیزیک شد (Yang et al. 2016). این تغییر در محتوی هورمون های موثر در جوانه‌زنی بذر می‌تواند عاملی تاثیرگذار بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و در نهایت جوانه‌زنی باشد. با توجه به وجود همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری بین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه حنا (جدول ۴) می‌توان استنباط کرد که احتمالاً برهمکنش پوترسین در تنش شوری سبب تغییر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز و در نهایت کاهش جوانه‌زنی بذرهای حنا می‌شود.

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش اطلاعات مفیدی را در خصوص واکنش جوانه‌زنی بذر حنا به پیش‌تیمار پوترسین و تنش شوری NaCl ارائه می‌کند. اعمال پیش‌تیمار پوترسین ۰/۷۵ میلی‌مولار سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی بذر حنا تحت سطوح تنش شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شد. اما در سایر شاخص های جوانه‌زنی، برهمکنش پوترسین در تنش شوری سبب تشدید آثار منفی سطوح بالای تنش شوری (۱۰۰ و۱۵۰ میلی‌مولار) گردید. همچنین نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بذور حنا حساس به تنش شوری است و تنها قادر به تحمل سطوح پایین تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) می‌باشند.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه جیرفت بابت فراهم نمودن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

## تعارض منافع

نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تعارض منافعی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارند.

## منابع

Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria 1. Crop science, 13(6), 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Adda, A., Regagba, Z., Latigui, A. & Merah, O. (2014). Effect of salt stress on α-amylase activity, sugars mobilization & osmotic potential of *Phaseolus vulgaris* L. seeds var. 'Cocorose' and 'Djadida' during germination. Journal of Biological Sciences, 14(5), 370-375. https://doi.org/10.3923/jbs.2014.370.375

Alcázar, R., Bueno, M. & Tiburcio, A. F. (2020). Polyamines: Small amines with large effects on plant abiotic stress tolerance. Cells, 9(11), 2373. https://doi.org/10.3390/cells9112373

Ali, R. M. (2000). Role of putrescine in salt tolerance of *Atropa belladonna* plant. Plant Science, 152(2), 173-179. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00227-7

Ali, R. M., Abbas, H. M., & Kamal, R. K. (2009). The effects of treatment with polyamines on dry matter and some metabolites in salinity–stressed chamomile and sweet majoram seedlings. Plant, Soil and Environment, 55(11), 477-483.

Ambika, S., Sujatha, K. & Balakrishnan, K. (2019). Seed priming treatments on seedling quality of henna (*Lawsonia inermis* L.) seeds. Acta Horticulture, 1241, 375-380. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1241.54

Khan, H. A., Ziaf, K., Amjad, M., & Iqbal, Q. (2012). Exogenous application of polyamines improves germination and early seedling growth of hot pepper. Chilean Journal of Agricultural Research, 72(3), 429-433.

Bahrasemani, S., Seyedi, A., Fathi, S., & Jowkar, M. (2023). The Seed Priming using Putrescine Improves, Germination Indices and Seedlings morphobiochemical Responses of Indigo (*Indigofera tinctoria*) under Salinity Stress. Journal of Medicinal plants and By-Products, 13(1), 179-188. https://doi.org/10.22034/jmpb.2023.128870

Borromeo, I., Domenici, F., Del Gallo, M., & Forni, C. (2023). Role of polyamines in the response to salt stress of tomato. Plants, 12(9), 1855. https://doi.org/10.3390/plants12091855

Chaudhary, G., Goyal, S., & Poonia, P. (2010). *Lawsonia inermis* Linnaeus: a phytopharmacological review. Int J Pharm Sci Drug Res, 2(2), 91-8.

Chen, D., Shao, Q., Yin, L., Younis, A., & Zheng, B. (2019). Polyamine function in plants: metabolism, regulation on development, and roles in abiotic stress responses. Frontiers in plant science, 9, 1945. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945

Dalziell, E. L., Lewandrowski, W., & Merritt, D. J. (2020). Increased salinity reduces seed germination and impacts upon seedling development in *Nymphaea* L. (Nymphaeaceae) from northern Australia's freshwater wetlands. Aquatic botany, 165, 103235. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103235

Enneb, H., Belkadhi, A., & Ferchichi, A. (2016). Physiological adaptations of henna plant (*Lawsonia inermis* L.) to different irrigation conditions in Tunisian arid region. *JAPS:* Journal of Animal & Plant Sciences, 26(4), 1026-1033. URL: http://www.thejaps.org.pk/docs/v-26-04/18.pdf

Enneb, H. & Mohammad Ayaz, A. (2016). Germination Behaviour of *Lawsonia inermis* L. as Influenced by Polyethylene Glycol (PEG). Dialogo, 3(1), 173-179.

Farahbakhsh, H., Pasandi Pour, A., & Reiahi, N. (2017). Physiological response of henna (*Lawsonia inermise* L.) to salicylic acid and salinity. Plant Production Science, 20(2), 237-247. https://doi.org/10.1080/1343943X.2017.1299581

Farsaraei, S., Mehdizadeh, L., & Moghaddam, M. (2021). Seed priming with putrescine alleviated salinity stress during germination and seedling growth of medicinal pumpkin. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21(3), 1782-1792. https://doi.org/10.1007/s42729-021-00479-z

Fernández-García, N., Olmos, E., Bardisi, E., García-De la Garma, J., López-Berenguer, C., & Rubio-Asensio, J. S. (2014). Intrinsic water use efficiency controls the adaptation to high salinity in a semi-arid adapted plant, henna (*Lawsonia inermis* L.). Journal of Plant Physiology, 171(5), 64-75. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.11.004

Hamidi Moghaddam, A. (2022). Effect of mechanical and chemical treatments on germination characteristic, total phenolic compound and enzyme activity of henna seeds (*Lawsonia inermis* L.). Iranian Journal of Seed Science and Research. *8*(4), 396-410. https://doi.org/10.22124/jms.2021.5288

Hammami, H., Saadatian, B., & Hosseini, S. A. H. (2020). Geographical variation in seed germination and biochemical response of milk thistle (*Silybum marianum*) ecotypes exposed to osmotic and salinity stresses. Industrial crops and products, 152, 112507. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112507

Hartman, H., D. Kester, & Davis, F. (1990). *Plant Propagation: Principle and Practices. Prentice* Hall International Editions.

Ibrahim, E. A. (2016). Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. Journal of plant physiology, 192, 38-46. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011

ISTA. (1979). The germination test. International Seed Testing Association. Seed Sci. Technol. 4, 23-28.

Krishnamurthy, L., Ito, O., Johansen, C., & Saxena, N. P. (1998). Length to weight ratio of chickpea roots under progressively receding soil moisture conditions in a Vertisol. Field Crops Research, 58(3), 177-185. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00093-8

Lal, G., Roy, P. K., & Singh, Y. V. (2007). Effect of different treatments on germination behaviour of henna (*Lawsonia inermis* L.) seeds. SAARC J. Agric, 5(2), *67-74*. http://www.saarcagri.net

Li, Z., Peng, Y., Zhang, X. Q., Ma, X., Huang, L. K., & Yan, Y. H. (2014). Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression. Molecules, 19(11), 18003-18024. https://doi.org/10.3390/molecules191118003

Liu, L., Xia, W., Li, H., Zeng, H., Wei, B., Han, S., & Yin, C. (2018). Salinity inhibits rice seed germination by reducing α-amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. Frontiers in Plant Science, 9, 275. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00275

Marzougui, N., Sabbahi, S., Guasmi, F., Hammami, A., Haddad, M., & Rejeb, S. (2018). Effects of wastewater quality on Henna (*Lawsonia inermis* L.) germination and seedling growth: a case study, Tunisia. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology, 3(1), 147-157. https://doi.org/10.22161/ijeab/3.1.19

Mohamadi, F., Bagheri, N., Kiani, G., & Babaeian Jelodar, N. (2018). Evaluation of reaction of some rice genotypes to salinity stress at germination stage. Journal of Crop Breeding, 10(27), 20-30. https://doi.org/10.29252/jcb.10.27.20

Mustafavi, S. H., Naghdi Badi, H., Sękara, A., Mehrafarin, A., Janda, T., Ghorbanpour, M., & Rafiee, H. (2018). Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. Acta Physiologiae Plantarum, 40, 1-19. https://doi.org/10.1007/s11738-018-2671-2

Najar, B., Pistelli, L., Marchioni, I., Pistelli, L., Muscatello, B., De Leo, M., & Scartazza, A. (2020). Salinity-Induced Changes of Photosynthetic Performance, Lawsone, VOCs, and Antioxidant Metabolism in *Lawsonia inermis* L. Plants, 9(12), 1797. https://doi.org/10.3390/plants9121797

Noroozisharaf, A., Kaviai, M., & Rasouli, M. (2021). Effect of brasinosteroid on morphological and physiological traits of garden thyme (*Thymus vulgaris*) in salinity stress. Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 8(1), 63-76. https://doi.org/10.22124/jms.2021.5203

Orhan, E., Uzundumlu, F., Yiğider, E., & Aydin, M. (2020). The effect of putrescine on DNA methylation on cabbage plant under salt stress conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 44(3), 301-311. https://doi.org/10.3906/tar-1911-38

Parida, A. K., Das, A. B., Mittra, B., & Mohanty, P. (2004). Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove *Bruguiera parviflora*. Zeitschrift für Naturforschung C, 59(5-6), 408-414. https://doi.org/10.1515/znc-2004-5-622

Parihar, S. S., Dadlani, M., Mukhopadhyay, D., & Lal, S. K. (2016). Seed dormancy, germination and seed storage in henna (*Lawsonia inermis*). The Indian Journal of Agricultural Sciences, 86(9), 1201-1207. https://doi.org/10.56093/ijas.v86i9.61520

Reis, R. S., de Moura Vale, E., Heringer, A. S., Santa-Catarina, C., & Silveira, V. (2016). Putrescine induces somatic embryo development and proteomic changes in embryogenic callus of sugarcane. Journal of proteomics, 130, 170-179. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.09.029

Sarhadi, H., Daneshian, J., Valadabadi, S. A., & Heidari Sharafabad, H. (2014). Study irrigation deficit and N fertilizer effect on reproductive components of henna ecotypes in Jiroft, Iran. Biological Forum An International Journal, 8(1), 80-87.

Serraj, R., & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions?. Plant, cell & environment, 25(2), 333-341. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x

Shuba, A. C., Channnakeshava, B. C., Bhanuprakash, K., & Kumar, A. (2018). Study on seed quality performance and enzymatic activity after dormancy breaking in henna. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7(1), 105-108.

Singh, D. K., Luqman, S., & Mathur, A. K. (2015). *Lawsonia inermis* L.–A commercially important primaeval dying and medicinal plant with diverse pharmacological activity: A review. Industrial Crops and Products, 65, 269-286.https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.025

Srivastava, A. K., Lokhande, V. H., Patade, V. Y., Suprasanna, P., Sjahril, R., & D'Souza, S. F. (2010). Comparative evaluation of hydro-, chemo-, and hormonal-priming methods for imparting salt and PEG stress tolerance in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). Acta Physiologiae Plantarum, 32, 1135-1144. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0505-y

Suchak, H., & Pandya, R. V. (2020). Effect of spermine and putrescine on germination and growth of *Vigna radiate* (L.) R. Wilczek seeds. In Proceedings of the National Conference on Innovations in Biological Sciences (NCIBS). http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3585124

Varghese, K. J., Silvipriya, K. S., Resmi, S., & Jolly, C. I. (2010). *Lawsonia inermis* (henna): a natural Dye of various therapeutic uses-a review. Inventi Impact: Cosmeceuticals.

Varner, J. E. (1964). Gibberellic acid controlled synthesis of α-amylase in barley endosperm. Plant Physiology, 39(3), 413–415. https://doi.org/10.1104/pp.39.3.413

Yang, L. I. U., Hong, X. U., WEN, X. X., & LIAO, Y. C. (2016). Effect of polyamine on seed germination of wheat under drought stress is related to changes in hormones and carbohydrates. Journal of Integrative Agriculture, 15(12), 2759-2774. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61366-7