نشست هم اندیشی با متخصصین و کارآفرینان عرصه گیاهان دارویی
دومین کنفرانس بین المللی
گیاهان دارویی، کشاورزی ارگانیک
مواد طبیعی و دارویی
The 2nd International Conference on
Medicinal Plants, Organic Farming,
Natural and medicinal materials
۲۲ اسفند ماه ۱۳۹۷ - مشهد مقدس

مطالعه واکنش جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) به فیتوهورمون سالیسیلیک اسید

مرضیه عباباف[۱]- حشمت امیدی[۲]- عبدالمهدی بخشنده[۳]

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشگاه شاهد تهران

۲-استادیار دانشگاه شاهد تهران:

۳-استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین

چکیده

به‌منظور بررسی تعیین مطلوب‌ترین مدت‌زمان و غلظت پرایمینگ بذر پروانش با اسید سالیسیلیک، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک در پنج سطح، صفر، ۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار، در پنج سطح زمانی صفر، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت بودند. نتایج نشان داد که غلظت و مدت‌زمان پرایمینگ بر تمام شاخص‌های موردمطالعه معنی‌دار بود. هم‌چنین اثر برهمکنش غلظت و مدت‌زمان پرایمینگ بر متوسط زمان جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه بذر و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت معنی‌دار بود. درصد جوانه‌زنی در غلظت ۱ میلی مولار ۲۴/۱ و در زمان ۴۸ ساعت ۲۲/۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. بالاترین سرعت جوانه‌زنی، در تیمار ۱ میلی مولار و در مدت‌زمان ۴۸ ساعت بود که ۴۰ درصد نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود. اثرات برهمکنش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت نشان داد، پرایمینگ بذر با غلظت ۱ میلی مولار در ۲۴ ساعت بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، به ترتیب موجب افزایش ۸۴ و ۶۲/۶ درصدی نسبت به شاهد شد. به‌طورکلی نتایج نشان داد پرایمینگ بذر با ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک در مدت ۲۴ ساعت موجب بهبود اکثر شاخص‌های موردمطالعه شد.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، پرایمینگ بذر، پروانش.

مقدمه

پروانش یکی از گیاهان دارویی-زینتی است که امروزه به‌عنوان گیاه دارویی در جهان مورد توجه قرارگرفته است. پروانش با اسم علمی *Catharanthus roseus* (L.) G. Don یک گیاه چندساله، بوته‌ای، متعلق به خانواده‌ی خرزهره (Apocynaceae) است (Nejat et al., ۲۰۱۵). این گیاه بومی مناطق ماداگاسکار بوده و اکنون به‌طور وسیع در چین، هند، اندونزی، استرالیا و شمال و جنوب آمریکا کشت می‌گردد (Yang et al., ۲۰۱۱). پروانش به دلیل دارا بودن خصوصیات ضد سرطان، ضد فشارخون، ضد دیابت و ضد میکروبی، شناخته‌شده است. این گیاه حاوی ۱۳۰ نوع تری ایندول آلکالوئید TIAs است، که ازجمله مهم‌ترین مواد مؤثره‌ی آن می‌توان ترکیبات وین کریستین، وین بلاستین (Nejat et al., ۲۰۱۵) را نام برد. پروانش دوره‌ی رویشی نسبتاً طولانی دارد. رشد اولیه‌ی آن بسیار کُند است و از بدو رویش بذر تا رسیدن و کامل شدن میوه، ۱۸۰ تا ۲۰۰ روز به طول می‌انجامد (امید بیگی، ۱۳۸۵). دوره‌ی رشد طولانی این گیاه یکی از محدودیت‌های کشت آن در مقیاس وسیع است (Muthulakshmi & Pandiyarajan, ۲۰۱۳).

جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه دو مرحله مهم برای استقرار محصولات هستند (Hubbard, Germida, & Vujanovic, ۲۰۱۲). جوانه‌زنی بذر شامل سه مرحله متمایز است مرحله اول جذب است که در آن آب توسط بذر جذب شده، اما فعالیت متابولیکی اندکی اتفاق می‌افتد؛ مرحله دوم، یک فاز تأخیری است که در آن مقدار خیلی کمی آب جذب بذر شده، اما فعالیت متابولیکی بذر قابل‌توجه است؛ و در مرحله سوم، افزایش در محتوای آب، همزمان با رشد ریشه‌چه مشخص خواهد شد(Bradford & Bewley, ۲۰۰۲) مدت‌زمان مرحله سه از اهمیت خاصی برخوردار است، چرا که جوانه‌زنی طی آن کامل شده و این مرحله همزمان با آغاز رشد جنین است. مدت‌زمان مرحله دوم و سوم در بذور پیش تیمار شده نسبت به بذور پیش تیمار نشده کاهش می‌یابد. پرایمینگ بذر یک فرآیند فیزیولوژیکی است و از روش‌های شناخته‌شده جهت جوانه‌زنی سریع بذر و بهبود استقرار گیاهچه است (Pouramir-Dashtmian, Khajeh-Hosseini, & Paparella et al., ۲۰۱۵ ; Esfahani, ۲۰۱۴) همچنین یک ابزار مهم برای بهبود توان محصول است (Batool, Ziaf, & Amjad, ۲۰۱۵). پرایمینگ بذر با کاهش طول دوره‌ی رشد موجب افزایش بهره‌وری زمین‌های زراعی شده به‌طوری‌که کشاورزان هندی توانستند سه محصول در یک سال برداشت کنند (Harris et al., ۲۰۰۱) پرایمینگ بذر موجب افزایش جوانه‌زنی یکسان، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها می‌شود (Santini & Martorell, ۲۰۱۳). القای افزایش درصد جوانه‌زنی بذر همراه با شروع فرآیندهای مربوط به جوانه‌زنی، فرآیندهای ترمیم و افزایش سطوح آنزیم‌های ضد اکسایشی مختلف مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز است (Vazirimehr, Ganjali, Rigi, & Keshtehgar, ۲۰۱۴) تأثیر نانو ذرات دی‌اکسید سیلیس (SiO_2) بر خصوصیات جوانه‌زنی بذور پروانش نشان داد که نانو ذرات SiO_2 درصد و سرعت جوانه‌زنی را افزایش می‌دهند (هاشمی دهکردی و مرتضوی، ۱۳۹۴). اثرات مثبت پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر را در گونه‌های مختلف گیاهی، به القای سازوکارهای بیوشیمیایی، ترمیم و بازسازی سلول مربوط دانسته (Di

Girolamo & Barbanti, ۲۰۱۲) و افزایش استقرار بذر را به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نسبت می‌دهند (Chiu, Chuang, & Sung, ۲۰۰۶).

اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی است که به‌عنوان فیتوهورمون شناخته‌شده است و به تنظیم فرآیندهای رشد و نمو، به‌ویژه جوانه‌زنی بذر، فتوسنتز، تنفس و گل‌دهی کمک می‌کند (Rivas-San Vicente & Plasencia, ۲۰۱۱). استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسید سالیسیلیک در زمان آبنوشی و پیش تیمار، فعالیت بذر را در بسیاری از گیاهان افزایش می‌دهد (Shinwari et al., ۲۰۱۵). مطالعات نشان داد که یکی از استراتژی‌های پرایمینگ بذر افزایش فعالیت آنزیم‌های مهارکننده‌ی رادیکال‌های آزاد مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز است (Rouhi Omid & Farzad, ۲۰۱۲ ; et al., ۲۰۱۲) اگرچه کارایی اسید سالیسیلیک در القای مکانیسم‌های دفاعی گیاه بستگی به غلظت و نحوه کاربرد آن دارد (Marcińska et al., ۲۰۱۳Huang, Wang, Sun, & Wei, ۲۰۱۶ ; He et al., ۲۰۱۰) اما احتمالاً اسید سالیسیلیک به‌طور مستقیم بر عملکرد آنزیم‌های خاصی تأثیر می‌گذارد و موجب تغییر ژن‌های مسئول پروسه‌های حافظتی می‌گردد (Anjum et al., ۲۰۱۱). اسید سالیسیلیک از طریق خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن جوانه‌زنی بذر را بهبود می‌بخشد (Lada et al., ۲۰۰۴). در حقیقت گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیبات فنلی مانند اسید سالیسیلیک با خاصیت دهندگی یک پروتون و الکترون، به‌عنوان جاروب‌گر در تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نقش دارند (Kuźniak & Urbanek, ۲۰۰۰). گزارش‌شده که تیمار بذر با اسید سالیسیلیک در رفع آسیب‌های اکسیداتیو در هنگام جوانه‌زنی دخالت دارد و باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر می‌شود که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در مرحله جوانه‌زنی کاهش می‌دهند و درنتیجه سبب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (Baalbaki et al., ۱۹۹۹). (Hussein, ۲۰۱۵) با بررسی اثر پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر بامیه (*Abelmoschus esculentus* L.) بیان داشت که پیش تیمار بذر با اسید سالیسیلیک با غلظت ۱۰۰ mg/L به مدت چهار ساعت بالاترین درصد و شاخص سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر را ایجاد نمود. آذرنیا و همکاران (۱۳۹۵) در آزمایشی به بررسی اثر مدت‌زمان و غلظت‌های مختلف پرایمینگ با جیبرلیک اسید و اسید سالیسیلیک پرداختند و گزارش کردند که اثر متقابل مدت‌زمان و غلظت پرایمینگ بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود.

با توجه به دوره‌ی رشد طولانی گیاه پروانش و کوچک بودن بذر و عدم استقرار مناسب آن در مزرعه با خاک‌هایی با بافت نیمه سنگین و سنگین، این تحقیق با هدف بررسی اثر پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک در غلظت‌ها و مدت‌زمان‌های متفاوت بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذر پروانش انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر مدت‌زمان و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر پروانش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده‌ی علوم کشاورزی

دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل مدت‌زمان پرایمینگ در پنج سطح (صفر، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و اسید سالیسیلیک با جرم مولکولی (۱۲۳/۱۳۸ $gmol^{-1}$) در پنج سطح (صفر، ۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) بود. بذور خشک (پرایم نشده) نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. بذرها از شرکت مزرعه سبز نمین تهیه شد. ابتدا بذرها با اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند و پس از آن با هیپوکلریت سدیم تجاری (۲/۵ درصد) به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده و مجدداً با آب مقطر شسته شدند (Taha, El-Bahr, & Seif-El-Nasr, ۲۰۰۹). بذرها در زمان‌های (۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی در محلول اسید سالیسیلیک با غلظت‌های موردنظر قرار گرفتند (Metwally et al., ۲۰۰۳) سپس با آب مقطر شسته شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا به رطوبت اولیه بذر رسیدند (Iqbal & Ashraf, ۲۰۰۷). سپس در هر پتری ضدعفونی شده حاوی یک کاغذ واتمن اتوکلاو شده با قطر ۹ سانتی‌متر ۵۰ عدد بذر کشت شد به هر پتری ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. به‌منظور کاهش میزان تبخیر آب، در پتری‌ها به‌وسیله پارافیلم بسته شد پس از این مرحله پتری‌های حاوی بذور به دستگاه ژرمیناتور منتقل و تحت دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۱۲ روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند (Senbagalakshmi, Rao, & Kumar, ۲۰۱۷) و از روز دوم پس از کشت شمارش بذرها روزانه در ساعت معینی به مدت ۱۰ روز انجام گرفت (Barkat, Abul, & Rahman, ۲۰۱۷) تعداد بذور جوانه‌زده (با طول ریشه‌چه دو میلی‌متر) روزانه شمارش و یادداشت شد (Kaya, Okçu, Atak, Cıkılı, & Kolsarıcı, ۲۰۰۶) طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه به‌وسیله کولیس و وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. جهت تعیین درصد جوانه‌زنی بذرها (Panwar & Bhardwaj, ۲۰۰۵)، متوسط زمان جوانه‌زنی (Ranal & Santana, ۲۰۰۶)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (Hunter, Glasbey, & Naylor, ۱۹۸۴)، شاخص طولی و وزنی بنیه بذر (Abdul-Baki & Anderson, ۱۹۷۳) از معادلات زیر استفاده شد. هم‌چنین فعالیت آنزیم کاتالاز بر طبق روش (Chance & Maehly, ۱۹۵۵) و پراکسیداز بر اساس روش (MacAdam, Nelson, & Sharp, ۱۹۹۲) اندازه‌گیری شد.

Germination percentage (GP) = (N×۱۰۰)/M درصد جوانه زنی (رابطه ۱)

Mean germination time (MGT) = ∑(Ni Di)/∑N میانگین زمان جوانه زنی (رابطه ۲)

Mean daily germination (MDG) = GP/T میانگین جوانه زنی روزانه

Seed length vigor index (SLV) = GP × Seedling length (SL) شاخص طولی بنیه بذر (رابطه ۳) (رابطه ۴)

شاخص وزنی بنیه بذر Seed weight vigor index (SWV) = GP × Seedling dry weight (SDW)

(رابطه ۵)

N: The sum of germinated seeds at the end of the experiment, M: The total number of planted seeds, Di: The time from the start of the experiment to the ith observation, Ni: The number of germinated seeds at time Di, ∑N: Total germinated seeds at the end of experiment, T: Period of germination.

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفته و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت و مدت‌زمان پرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل مدت و غلظت پرایمینگ معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج نشان داد که با افزایش مدت‌زمان پرایمینگ درصد جوانه‌زنی افزایش یافت و بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۳/۲ درصد) در ۲۴ ساعت و کمترین آن (۶۴/۶ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲). در غلظت ۱ میلی مولار و شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی مشاهده شد (جدول ۲). درصد جوانه‌زنی در غلظت ۱ میلی مولار نسبت به شاهد افزایش ۲۴/۱ درصدی داشت (جدول ۲). ممکن است اسید سالیسیلیک جوانه‌زنی بذر را از طریق بیوسنتز جیبرلیک اسید تحریک کرده و به‌عنوان القاکننده ترموژن عمل کند (Shah, ۲۰۰۳). گزارش‌شده بذرهایی که جوانه‌زنی آن‌ها در حضور اسید سالیسیلیک انجام‌شده ایزوسیترات لیاز و مالات سینتاز بیشتری دارند (ایزوسیترات لیاز و مالات سینتاز از آنزیم‌های کلیدی چرخه‌ی گلی اکسالات هستند که نقش حیاتی در سنتز کربوهیدرات‌ها از لیپیدهای ذخیره‌ای، در طول زمان جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه دارند (Eastmond & Graham, ۲۰۰۱). (خرمدل و همکاران، ۱۳۹۲) در بررسی‌های خود بر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی سیاهدانه، گزارش کردند که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از ۰/۱ تا ۱ میلی مولار درصد جوانه‌زنی افزایش یافت و پس از آن افزایش غلظت منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی شد. به نظر می‌رسد ازآنجاکه اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهان است احتمالاً اثرات متفاوتی در غلظت‌های مختلف نشان می‌دهد. در کنار کاربرد هورمون‌های گیاهی، مدت‌زمان تماس بذر با این مواد بسیار حائز اهمیت است، به‌طوری‌که در مدت‌زمان‌های طولانی‌تر باید مقدار و یا به عبارتی غلظت هورمون‌ها را کمتر و در مدت‌زمان‌های کوتاه‌تر بهتر است که غلظت مواد تنظیم‌کننده رشد را بیشتر در نظر گرفت. با افزایش مدت‌زمان پرایمینگ، نفوذ هورمون‌ها به درون بذر بیشتر می‌شود و درنتیجه در پی افزایش فعالیت آنزیم‌های تحریک‌کننده جوانه‌زنی، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر افزایش می‌یابد (آذرنیا، ۱۳۹۵).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر مدت‌زمان و غلظت پرایمینگ با اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر پروانش

Table ۱. Analysis of variance effect of timing and concentration priming with salicylic acid on *Catharanthus roseus* seed germination indexes

منابع تغییرات Sources of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square									
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	متوسط جوانه‌زنی روزانه Mean of daily germination	طول گیاهچه Seedling length	طول ساقه-چه Plumule length	طول ریشه‌چه Radicle length	شاخص وزنی بنیه بذر Seed weight vigor index	شاخص طولی بنیه بذر Seed length vigor index	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase
غلظت (میلی مولار) Concentration (mM)	۴	۱۰۴۵.۰۷**	۲.۶۴**	۱۲.۸۹**	۱.۲۶*	۰.۰۷n.s	۰.۸۴n.s	۳۴۲۲.۰۳**	۲۶۰۲۸.۵۱**	۳۵.۶۹**	۴۳.۵۵**
زمان (ساعت) Time (h)	۴	۹۰۴.۱۳**	۲.۹۷**	۱۱.۱۵**	۱.۵۹**	۰.۱۶*	۱.۳۸*	۱۱۳۵.۹۶**	۱۳۱۷۴.۶**	۷۷.۶۲**	۲۳.۵۲**
غلظت×زمان Concentration × Time	۱۶	۱۰۵.۰۳n.s	۰.۳۳*	۱.۳n.s	۰.۳۷n.s	۰.۰۳n.s	۰.۳۹n.s	۲۶۹.۲۸n.s	۳۸۶۳.۳۹*	۸.۷۶**	۶.۲**
خطای آزمایش Experimental error	۵۰	۱۱۰.۵۰	۰.۱۴	۱.۳۶	۰.۳۵	۰.۰۴	۰.۴۹	۲۲۵.۵۸	۱۹۸۷.۳۲	۱.۶۴	۱.۱۵

ضریب تغییرات(٪) Coefficient of variation (CV)	-	۱۳.۸۸	۹.۷۲	۱۳.۸۷	۱۴.۰۰	۱۱.۶۳	۲۸.۴۸	۲۱.۴۹	۱۴.۰۱	۲۹.۶۳	۱۴.۸۰

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

ns, * and ** non-significant, Significant at ۵٪ and ۱٪ respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف غلظت و زمان پرایمینگ بر صفات جوانه‌زنی

Table ۲. Mean comparison of the effects of concentration and time different levels priming on germination characteristics

تیمار Treatment غلظت (میلی مولار) Concentration (mM)	درصد جوانه‌زنی (درصد) Germination percentage (%)	متوسط جوانه‌زنی روزانه (روز) Mean of daily germination (day)	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Seedling length (cm)	طول ساقه-چه (سانتی‌متر) Plumule length (cm)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر) Radicle length (cm)	شاخص وزنی بنیه گیاهچه Seedling weight vigor index
شاهد (control)	۶۴.۶۶c	۷.۱۸c	۴.۵۵a	۱.۷۷ab	۲.۷۸a	۵۶.۱۸b
۰.۰۱	۷۱.۶bc	۷.۹۵bc	۳.۹۴b	۱.۷۳b	۲.۲۰a	۵۵.۷۱b
۰.۱	۷۴.۵۳b	۸.۲۸b	۴.۰۴۸b	۱.۷۵ab	۲.۳۱a	۶۶.۰۷b
۰.۵	۸۲.۶۶a	۹.۱۸a	۴.۵۷a	۱.۹۱a	۲.۶۵a	۸۳.۲a
۱	۸۵.۲a	۹.۴۶a	۴.۱۸ab	۱.۷۸ab	۲.۴۴a	۸۸.۰۶a
زمان (ساعت) Time						
۶	۷۱.۳۳bc	۷.۹۲bc	۴.۵۵a	۱.۹۳a	۲.۶۴a	۶۶.۶۷ab
۱۲	۷۷.۳۳ab	۸.۵۹ab	۳.۸۰c	۱.۸۴ab	۲.۰۰b	۷۱.۹۶a
۲۴	۸۳.۲a	۹.۲۴a	۴.۳۲ab	۱.۷۲b	۲.۶a	۷۸.۴۴a
۴۸	۸۲.۱۳a	۹.۱۲a	۴.۰۵bc	۱.۶۷b	۲.۳۸ab	۷۵.۷۷a

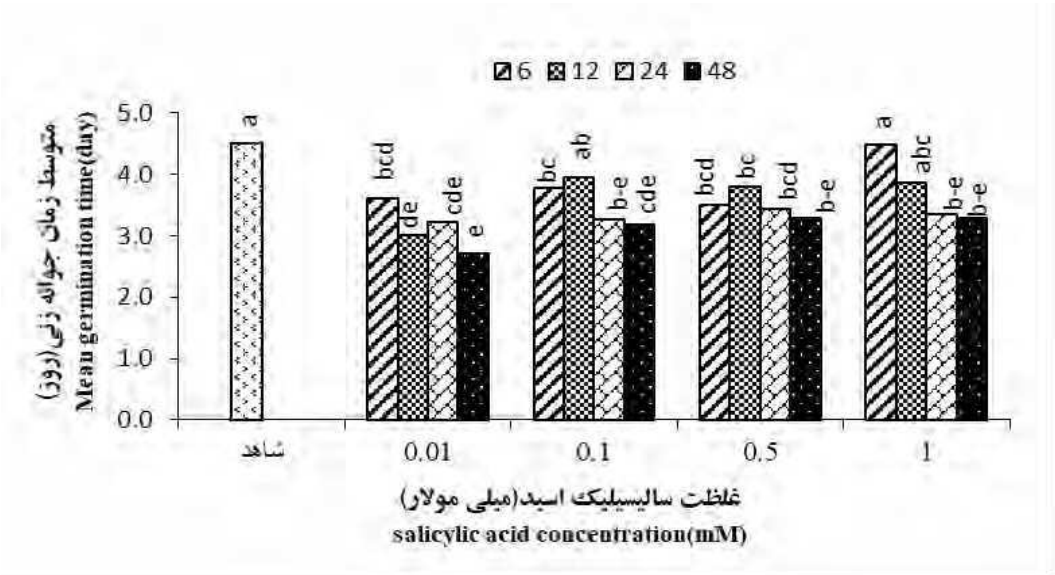
در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

In each column, means having at least one same letter, are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($p \leq ۰.۰۵$)

متوسط مدت‌زمان جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد غلظت و مدت‌زمان پرایمینگ تأثیر معنی‌داری بر متوسط زمان جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه داشت و اثر متقابل تیمارها در سطح احتمال پنج درصد بر متوسط زمان جوانه‌زنی معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج

مقایسه میانگین نشان داد که تیمار شاهد با متوسط زمان جوانه‌زنی ۴/۵ روز کمترین سرعت جوانه‌زنی و تیمار ۰/۰۱ میلی مولار در مدت‌زمان ۴۸ ساعت با میانگین جوانه‌زنی ۲/۷ روز بیشترین سرعت جوانه‌زنی را داشت (شکل ۱). میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی بذر صفت بسیار مهمی در استقرار گیاهچه و استفاده مفید و مؤثر از شرایط محیطی است. کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده به افزایش احتمالی سرعت تقسیم سلولی که در اثر سنتز RNA، DNA و پروتئین در طی پرایمینگ رخ می‌دهد و هم‌چنین بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی که در فرآیند جوانه‌زنی کامل شده و بذر در آستانه جوانه‌زنی می‌گیرد، نسبت داده شده است (Foti et al., ۲۰۰۸; Brancalion et al., ۲۰۰۸). هم‌چنین کمترین و بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه به ترتیب در شاهد با ۷/۱ روز و در تیمار ۲۴ ساعت پرایمینگ با ۹/۲ روز مشاهده شد، که نشان می‌دهد سرعت جوانه‌زنی روزانه در تیمار ۲۴ ساعت ۲۲/۸ درصد نسبت به شاهد بیشتر بود ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار ۴۸ و ۱۲ ساعت نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک نشان داد که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک متوسط جوانه‌زنی روزانه افزایش یافت و بیشترین میانگین جوانه‌زنی روزانه مربوط به تیمار ۱ میلی مولار بود که با غلظت ۰/۵ میلی مولار اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت اسید سالیسیلیک بر متوسط زمان جوانه‌زنی

Figure۱. Mean comparison effect of time and concentration on mean germination of time

طول گیاهچه

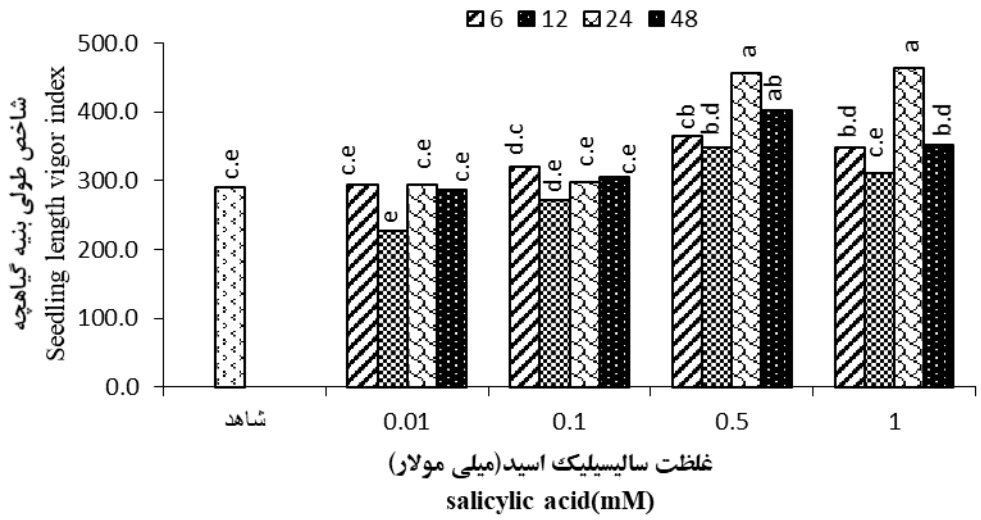
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی مدت‌زمان و غلظت اسید سالیسیلیک بر طول گیاهچه تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). در بین زمان‌های مختلف پرایمینگ بلندترین طول گیاهچه در ۶ ساعت پرایمینگ بود و کوتاه‌ترین طول گیاهچه در تیمار ۱۲ ساعت با طول ۳/۸ سانتی‌متر مشاهده شد (جدول ۲). یکی از ویژگی‌های مهم بذرهای پرایم شده در مقایسه با بذرهای غیرپرایم این است که وقتی در شرایط مطلوب جوانه‌زنی قرار می‌گیرند، سریعاً جوانه‌زده و تولید ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌کنند و درنتیجه طول گیاهچه بذرهای پرایم شده بسیار بیشتر از بذرهای غیرپرایم می‌باشد (Murungu, Nyamugafata, Chiduza, Clark, & Whalley, ۲۰۰۳). نتایج نشان داد در بین غلظت‌های مختلف بیشترین طول گیاهچه (۴/۵۷ سانتی‌متر) در تیمار ۰/۵ و کمترین آن در تیمار ۰/۰۱ با طول گیاهچه ۳/۹ سانتی‌متر بود (جدول ۲). اسید سالیسیلیک طویل شدن و تقسیم سلولی را به همراه مواد دیگری از قبیل اکسین تنظیم می‌نماید. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در گیاه، میزان تقسیم سلولی را در مریستم انتهایی ریشه‌های اولیه که رشد طولی را موجب می‌شوند افزایش می‌دهد (Serraj & Sinclair, ۲۰۰۲).

طول ساقه‌چه و ریشه‌چه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد مدت‌زمان‌های مختلف پرایمینگ اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چه دارند، اما غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک هیچ اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نداشتند (جدول ۱). بیشترین طول ساقه‌چه در تیمار ۶ ساعت پرایمینگ دیده شد که با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). مطالعات (ریاضی و همکاران، ۱۳۸۶) نشان داد که پرایمینگ بذر به دلیل ایجاد تغییرات در جذب آب در بذور رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه را تغییر می‌دهد؛ که میزان این تغییر بر اساس گونه‌ها و شرایط پرایمینگ متفاوت است. افزایش طول ریشه‌چه را در برخی شرایط می‌توان به‌سرعت بالاتر جوانه‌زنی مربوط دانست (حسینی و نصیری محلاتی، ۱۳۸۷). بلندترین ریشه‌چه با ۲/۷ سانتی‌متر طول در تیمار شاهد دیده شد (جدول ۲). (کبیری و همکاران ۱۳۹۶) در آزمایش خود دریافتند که بذوری که توسط اسید سالیسیلیک پیش تیمار شدند، نسبت به شرایط عدم پیش تیمار طول ریشه‌چه بیشتری داشت. افزایش در طول ریشه بذری و وزن خشک آن، احتمالاً به علت تحریک فعالیت‌های متابولیکی داخل جنین است در هنگام جذب آب همانندسازی DNA تحریک فعالیت RNA و در نتیجه پروتئین‌سازی، ترمیم غشای سلولی و افزایش غلظت هورمون‌های محرک جوانه‌زنی ازجمله اتیلن صورت می‌گیرد که مجموعه این عوامل مقدمات جوانه‌زنی را فراهم می‌آورند و زمانی که این بذرهای تیمار شده، تحت شرایط جوانه‌زنی قرار می‌گیرند در مقایسه با شاهد پیشی می‌گیرند (Chojnowski, Corbineau, & Côme, ۱۹۹۷).

شاخص طولی و وزنی بنیه بذر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت و زمان در صفات شاخص وزنی و طولی بنیه بذر معنی‌دار شد. هم‌چنین اثر متقابل غلظت × زمان بر شاخص طولی بنیه بذر در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). بیشترین شاخص طولی بنیه بذر در غلظت ۱ میلی مولار همراه با ۲۴ ساعت پرایمینگ بذر مشاهده شد (شکل ۲). در بین اثرات اصلی، تیمار ۲۴ ساعت و غلظت ۱ میلی مولار بیشترین تأثیر را بر شاخص وزنی بنیه بذر داشت (جدول ۲). ازآنجایی‌که شاخص طولی بنیه بذر از حاصل‌ضرب درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه به دست می‌آید و با هر دو مؤلفه ارتباط دارد؛ بنابراین هر تیماری که این دو مؤلفه را افزایش دهد بنیه بذر را نیز افزایش می‌دهد به همین دلیل افزایش بنیه بذر با استفاده از تیمارهای پرایمینگ می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی و درنتیجه افزایش مصرف مواد ذخیره‌ای بذر و طویل شدن گیاهچه در اثر افزایش انرژی در بذرهای پرایم شده در ارتباط باشد (Ansari, Azadi, Sharif-Zadeh, & Younesi, ۲۰۱۳). (آذرنیا و همکاران ۱۳۹۵) گزارش دادند که اثر اصلی مدت‌زمان و غلظت پرایمینگ در سطح یک درصد بر بنیه بذر معنی‌دار بوده و مؤثرترین طول مدت پرایمینگ جهت افزایش بنیه بذر ۱۲ ساعت پرایمینگ است. (Sivritepe et al., ۲۰۰۳)نیز بیان نمودند که بذرهای پرایم شده دارای قدرت جوانه‌زنی بسیار مطلوب‌تری نسبت به بذور غیر پرایم هستند.



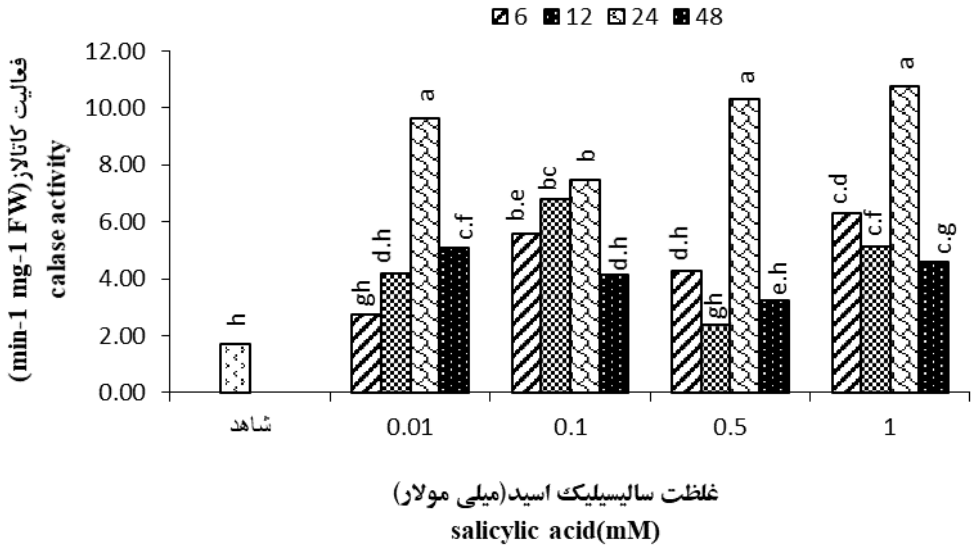
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت اسید سالیسیلیک بر شاخص طولی بنیه گیاهچه

Figure ۲. Mean comparison effect of time and concentration on seedling length vigor index

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی

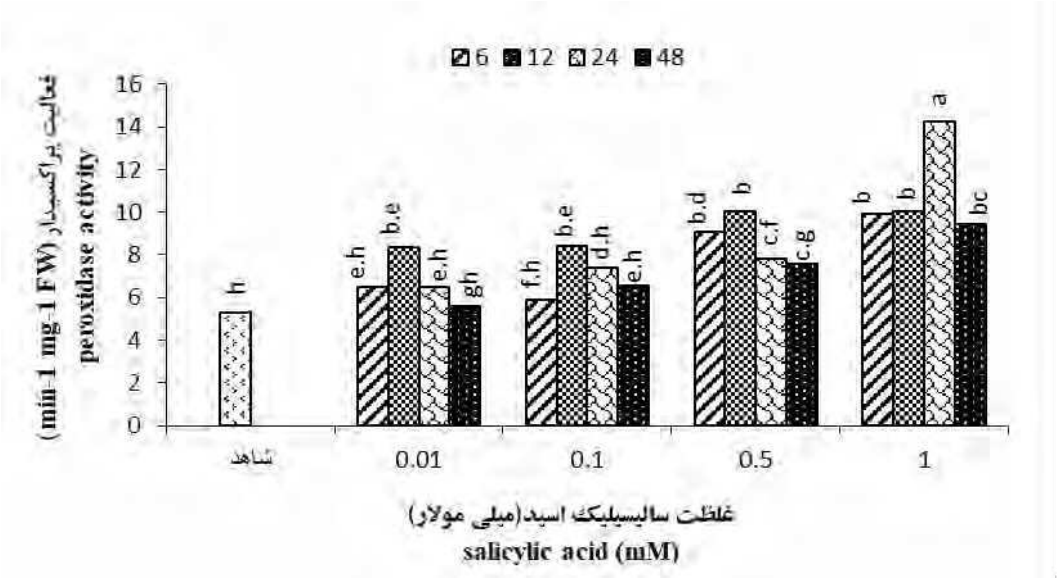
کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مدت‌زمان، غلظت پرایمینگ و اثر متقابل عوامل تیماری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی است که با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان این آنزیم را در گیاهان بیشتر افزایش داد. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک بوده که اختلاف معنی‌داری با ۰/۱ میلی مولار نداشته و نسبت به تیمار شاهد ۸۴ درصد فعالیت بیشتری نشان داد (شکل ۳). گزارش شده که اسید سالیسیلیک در بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه ازجمله تأثیر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مؤثر است (Wang, Chen, Kong, Li, & Archbold, ۲۰۰۶). در میان سطوح زمان‌های مختلف پرایمینگ، تیمار ۲۴ ساعت و شاهد به‌ترتیب بیشترین کمترین مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را داشت. هم‌چنین در بین اثرات متقابل غلظت ۱ میلی مولار در ۲۴ ساعت بیشترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت (شکل ۳). پرایمینگ سبب افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی شده و از این طریق سبب افزایش و بهبود در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود. در آنزیم پراکسیداز بیشترین فعالیت آنزیمی در بین اثرات اصلی مربوط به تیمار ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک و مدت‌زمان ۱۲ ساعت پرایمینگ مشاهده شد، هم‌چنین اثر متقابل مدت‌زمان × غلظت پرایمینگ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در ۲۴ ساعت پرایمینگ و در غلظت ۱ میلی مولار بود (شکل ۴). (افکاری، ۱۳۹۵) بیان کرد که بین شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در بذرهای پیش تیمار شده ارتباط و همبستگی مثبتی وجود دارد. برخی گزارش‌ها نشان داده کاربرد اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در گیاه ذرت افزایش داده است (Krantev, ۲۰۰۸).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم کاتالاز

Figure ۳. Mean comparison effect of time and concentration on catalase activity



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر مدت و غلظت اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

Figure ۴. Mean comparison effect of time and concentration on peroxidase activity

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تکنیک پرایمینگ موجب بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذر پروانش شد. بین مدت‌زمان‌های مختلف پیش تیمار اختلاف معنی‌داری وجود داشت، لذا می‌توان بیان نمود که مدت‌زمان پیش تیمار بذر یکی از عوامل مهم پرایمینگ بذر است و تعیین زمان مناسب پرایمینگ موجب جلوگیری از تأثیر منفی پیش تیمار بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه بذور پرایم شده می‌شود. بنابراین باید در تحقیقات بهترین مدت‌زمان پیش تیمار بذر را در هر گونه گیاهی تعیین کرد تا پیش تیمار کردن منجر به بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شود. به‌طورکلی در این تحقیق مشخص شد که هر چه مدت‌زمان پیش تیمار افزایش یابد بهبود مؤلفه‌های جوانه‌زنی را به همراه دارد. بنابراین بهترین مدت‌زمان برای پیش تیمار بذر پروانش ۲۴ ساعت بود و در بین غلظت‌های کاربردی اسید سالیسیلیک، غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی مولار بهترین نتایج را نشان داد. بنابراین تعیین بهترین غلظت ماده پرایمینگ بـذر و مدت‌زمان نگهداری در آن به‌عنوان یک عامل کلیدی جهت استفاده از اثرات مثبت پرایمینگ بذر محسوب می‌شود.

منابع

آذرنیا، محسن، بیابانی، عباس، عیسوند، حمیدرضا، غلامعلیپور علمداری، ابراهیم، صفی خانی، سعید. اثر پرایمینگ بذور با اسید جیبرلیک و اسید سالیسیلیک بر خصوصیات جوانه زنی و کیفیت فیزیولوژیک بذر و گیاهچه عدس (*Lens culinaris* L.) مجله پژوهشهای بذر ایران، سال سوم، شماره اول، ۱۳۹۵، ۷۳-۵۹

افکاری، احمد، تأثیر پرایمینگ بذر بر شاخصهای جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش خشکی، فصلنامه علمی –پژوهشی زیست شناسی تکوینی، سال نهم، شماره، سوم، تابستان ۱۳۹۶، ۴۴-۳۳

خرمدل، سرور،رضوانی مقدم، پرویز، امین غفوری، افسانه، شباهنگ، جواد، بررسی تاثیر پرایمینگ با سالیسیلیک اسید و تنش خشکی بر خصوصیات جوانه زنی سیاهدانه (*Nigella sativa* L.)، نشریه پژوهش های زراعی ایران، جلد دهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۱،۷۲۵-۷۰۹

کبیری، رزیتا و نقی زاده، مهدی، بررسی اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه سیاهدانه (Nigella sativa)در شرایط تنش شوری، نشریه علوم و فناوری بذر ایران "جلد چهارم، شماره ۱ ،بهار و تابستان ۹۴، ۶۱-۷۲

Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (۱۹۷۳). Relationship Between Decarboxylation of Glutamic Acid and Vigor in Soybean Seed ۱. *Crop science,* ۱۳(۲), ۲۲۷-۲۳۲.

Anjum, S. A., Xie, X.-y., Wang, L.-c., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. (۲۰۱۱). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research,* ۶(۹), ۲۰۲۶-۲۰۳۲.

Ansari, O., Azadi, M., Sharif-Zadeh, F., & Younesi, E. (۲۰۱۳). Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (Secale montanum) seeds under drought stress conditions. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry,* ۹(۳).

Baalbaki, R., Zurayk, R., Bleik, M., & Talhouk, S. (۱۹۹۹). Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moisture stress. *Seed science and technology,* ۲۷(۱), ۲۹۱-۳۰۲.

Barkat, M. A., Abul, H., & Rahman, M. A. (۲۰۱۷). Agricultural, pharmaceutical, and therapeutic interior of Catharanthus roseus (L.) G. Don *Catharanthus roseus* (pp. ۷۱-۱۰۰): Springer.

Batool, A., Ziaf, K., & Amjad, M. (۲۰۱۵). Effect of halo-priming on germination and vigor index of cabbage (Brassica oleracea var. capitata). *Journal of Environmental and Agricultural Sciences,* ۲(۷), ۸pp.

Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W., & Nonogaki, H. (۲۰۱۳). Germination *Seeds* (pp. ۱۳۳-۱۸۱): Springer.

Bradford, K., & Bewley, J. (۲۰۰۲). Seeds: Biology, technology and role in agriculture. *Plants, genes and crop biotechnology, ۲nd ed., Jones and Barlett, Boston, MA, USA*, ۲۱۰-۲۳۹.

Chance, B., & Maehly, A. (۱۹۵۵). [۱۳۶] Assay of catalases and peroxidases.

Chiu, K., Chuang, S., & Sung, J. (۲۰۰۶). Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of Echinacea purpurea seeds that differ in size. *Scientia Horticulturae,* ۱۰۸(۲), ۲۲۰-۲۲۶.

Chojnowski, M., Corbineau, F., & Côme, D. (۱۹۹۷). Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. *Seed Science Research,* ۷(۴), ۳۲۳-۳۳۲.

Di Girolamo, G., & Barbanti, L. (۲۰۱۲). Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. *Italian Journal of Agronomy,* ۷(۲), ۲۵.

Eastmond, P. J., & Graham, I. A. (۲۰۰۱). Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. *Trends in plant science,* ۶(۲), ۷۲-۷۸.

Huang, C., Wang, D., Sun, L., & Wei, L. (۲۰۱۶). Effects of exogenous salicylic acid on the physiological characteristics of Dendrobium officinale under chilling stress. *Plant Growth Regulation,* ۷۹(۲), ۱۹۹-۲۰۸.

Hubbard, M., Germida, J., & Vujanovic, V. (۲۰۱۲). Fungal endophytes improve wheat seed germination under heat and drought stress. *Botany,* ۹۰(۲), ۱۳۷-۱۴۹.

Hunter, E., Glasbey, C., & Naylor, R. (۱۹۸۴). The analysis of data from germination tests. *The Journal of Agricultural Science,* ۱۰۲(۱), ۲۰۷-۲۱۳.

Hussein, H. J. (۲۰۱۵). Effect of seed priming treatment with salicylic acid on viability of okra (Abelmoschus esculentus L.) seeds. *Euphrates Journal of Agriculture Science-۷ (۲)*, ۱-۹.

Iqbal, M., & Ashraf, M. (۲۰۰۷). Seed Treatment with Auxins Modulates Growth and Ion Partitioning in Salt-stressed Wheat Plants. *Journal of Integrative Plant Biology,* ۴۹(۷), ۱۰۰۳-۱۰۱۵.

Kaya, M. D., Okçu, G., Atak, M., Cıkılı, Y., & Kolsarıcı, Ö. (۲۰۰۶). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (Helianthus annuus L.). *European journal of agronomy,* ۲۴(۴), ۲۹۱-۲۹۵.

Krantev, A., Yordanova, R., Janda, T., Szalai, G., & Popova, L. (۲۰۰۸). Treatment with salicylic acid decreases the effect of cadmium on photosynthesis in maize plants. *Journal of plant physiology,* ۱۶۵(۹), ۹۲۰-۹۳۱.

Lada, R., Stiles, A., Surette, M., Sturz, A., Blake, T., Caldwell, C., & Nowak, J. (۲۰۰۴). Stand establishment technologies for processing carrots. *Acta Horticulturae*, ۱۰۵-۱۱۶.

MacAdam, J. W., Nelson, C. J., & Sharp, R. E. (۱۹۹۲). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology,* ۹۹(۳), ۸۷۲-۸۷۸.

Marcińska, I., Czyczyło-Mysza, I., Skrzypek, E., Grzesiak, M. T., Janowiak, F., Filek, M., . . . Juzoń, K. (۲۰۱۳). Alleviation of osmotic stress effects by exogenous application of salicylic or abscisic acid on wheat seedlings. *International journal of molecular sciences,* ۱۴(۷), ۱۳۱۷۱-۱۳۱۹۳.

Murungu, F., Nyamugafata, P., Chiduza, C., Clark, L., & Whalley, W. (۲۰۰۳). Effects of seed priming, aggregate size and soil matric potential on emergence of cotton (Gossypium hirsutum L.) and maize (Zea mays L.). *Soil and Tillage Research,* ۷۴(۲), ۱۶۱-۱۶۸.

Muthulakshmi, S., & Pandiyarajan, V. (۲۰۱۳). Influence of IAA on the vincristine content of Catharanthus roseus (L). G. Don. *Asian J Plant Sci Res,* ۳(۴), ۸۱-۸۷.

Nejat, N., Valdiani, A., Cahill, D., Tan, Y.-H., Maziah, M., & Abiri, R. (۲۰۱۵). Ornamental exterior versus therapeutic interior of Madagascar Periwinkle (Catharanthus roseus): the two faces of a versatile herb. *The Scientific World Journal,* ۲۰۱۵.

Omid, A., & Farzad, S.-Z. (۲۰۱۲). Osmo and hydro priming improvement germination characteristics and enzyme activity of Mountain Rye (Secale montanum) seeds under drought stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry,* ۸(۴).

Panwar, P., & Bhardwaj, S. (۲۰۰۵). *Handbook of practical forestry*: Agrobios (India).

Paparella, S., Araújo, S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., & Balestrazzi, A. (۲۰۱۵). Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant cell reports,* ۳۴(۸), ۱۲۸۱-۱۲۹۳.

Pouramir-Dashtmian, F., Khajeh-Hosseini, M., & Esfahani, M. (۲۰۱۴). Improving chilling tolerance of rice seedling by seed priming with salicylic acid. *Archives of Agronomy and Soil Science,* ۶۰(۹), ۱۲۹۱-۱۳۰۲.

Ranal, M. A., & Santana, D. G. d. (۲۰۰۶). How and why to measure the germination process? *Brazilian Journal of Botany,* ۲۹(۱), ۱-۱۱.

Rivas-San Vicente, M., & Plasencia, J. (۲۰۱۱). Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of experimental botany,* ۶۲(۱۰), ۳۳۲۱-۳۳۳۸.

Rouhi, H., Aboutalebian, M., Moosavi, S., Karimi, F., Karimi, F., Saman, M., & Samadi, M. (۲۰۱۲). Change in several antioxidant enzymes activity of Berseem clover (Trifolium alexandrinum L.) by priming. *International Journal of AgriScience,* ۲(۳), ۲۳۷-۲۴۳.

Santini, B. A., & Martorell, C. (۲۰۱۳). Does retained-seed priming drive the evolution of serotiny in drylands? An assessment using the cactus Mammillaria hernandezii. *American Journal of Botany,* ۱۰۰(۲), ۳۶۵-۳۷۳.

Senbagalakshmi, P., Rao, M., & Kumar, T. S. (۲۰۱۷). In vitro studies, biosynthesis of secondary metabolites and pharmacological utility of Catharanthus roseus (L.) G. Don.: a review *Catharanthus roseus* (pp. ۱۵۳-۱۹۹): Springer.

Serraj, R., & Sinclair, T. (۲۰۰۲). Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, cell & environment,* ۲۵(۲), ۳۳۳-۳۴۱.

Shah, J. (۲۰۰۳). The salicylic acid loop in plant defense. *Current opinion in plant biology,* ۶(۴), ۳۶۵-۳۷۱.

Shinwari, K. I., Jan, M., Shah, G., Khattak, S. R., Urehman, S., Daud, M., . . . Jamil, M. (۲۰۱۵). SEED PRIMING WITH SALICYLIC ACID INDUCES TOLERANCE AGAINST CHROMIUM (VI) TOXICITY IN RICE (ORYZA SATIVA L.). *PAKISTAN JOURNAL OF BOTANY,* ۴۷, ۱۶۱-۱۷۰.

Taha, H., El-Bahr, M., & Seif-El-Nasr, M. (۲۰۰۹). In vitro studies on Egyptian Catharanthus roseus (L.). II. Effect of biotic and abiotic stress on indole alkaloids production. *Journal of Res. Applied Sciences,* ۵, ۱۸۲۶-۱۸۳۱.

Vazirimehr, M., Ganjali, H., Rigi, K., & Keshtehgar, A. (۲۰۱۴). Effect of seed priming on quantitative traits corn. *Int J Pl Sci,* ۴, ۱۳۴-۱۴۰.

Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S., & Archbold, D. D. (۲۰۰۶). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology and Technology,* ۴۱(۳), ۲۴۴-۲۵۱.

Yang, L., Wang, H., Zu, Y.-g., Zhao, C., Zhang, L., Chen, X., & Zhang, Z. (۲۰۱۱). Ultrasound-assisted extraction of the three terpenoid indole alkaloids vindoline, catharanthine and vinblastine from Catharanthus roseus using ionic liquid aqueous solutions. *Chemical Engineering Journal,* ۱۷۲(۲-۳), ۷۰۵-۷۱۲.