اثر تیمار بذر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) در شرایط تنش خشکی

۱- فهیمه هلالی سلطان احمدی، دانشجوی دکترای تخصصی زراعت-فیزیولوژی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
f_helali82@yahoo.com
۲- محمدرضا عامریان، دانشیار فیزیولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۳- مهدی قیاسی، استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴- حمید عباس‌دخت، دانشیار، اکولوژی گیاهان زراعی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۷
پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۸

چکیده

به‌منظور کاهش اثرات تخریبی تنش خشکی پیش تیمار بذر بر روی گیاه همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)، آزمایشی تحت شرایط مزرعه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به‌صورت مرکب (تکرار در مکان) در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه و سلماس اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل رژیم‌های آبیاری و پیش تیمار بذر بودند که فاکتور اول آبیاری در دو سطح آبیاری منظم و قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی و فاکتور دوم تیمار پیش از کاشت بذر در هفت سطح شامل بذور پرایم شده با کودهای نانو (اکسید آهن، اکسید روی، اکسید بر با غلظت دو در هزار) و پرایم شده با مواد آلی (اسید هیومیک ۷۲ میلی‌گرم در لیتر، اسید سالیسیلک ۲۰۰۰ میکرو مول و اسید آسکوربیک ۲۰۰ پی پی‌ام) و شاهد بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل پیش تیمار بذر با مواد آلی و نانو در تنش خشکی بر روی کلیه صفات مورد مطالعه به استثنای پروتئین محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، درصد روغن، عملکرد روغن و وزن هزار دانه با کاربرد پیش تیمار نانواکسید روی نسبت به تیمار شاهد، در شرایط تنش خشکی به ترتیب ۱۶، ۱۲ و ۸ درصد افزایش یافت. همچنین کاربرد تیمار اسید سالسیلیک باعث کاهش قابل‌توجهی در تجمع پرولین به مقدار ۱۳ درصد و افزایش پروتئین محلول به مقدار ۱۸ درصد نسبت به شاهد شد. با کاربرد پیش تیمار نانواکسید آهن فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ۳۹ درصد و پراکسیداز ۵۷ درصد نسبت به شاهد (عدم تیمار) افزایش نشان داد. به‌طورکلی، پیش تیمار بذر با سطوح مختلف سالسیلیک اسید و نانواکسید آهن و روی به‌طور معنی‌داری باعث کاهش تأثیر منفی ناشی از تنش خشکی بر اغلب صفات مورد بررسی شد. بوته‌های حاصل از بذرهایی که با سالسیلیک اسید و نانواکسید روی و آهن تیمار شده بودند از تحمل به تنش بالاتری برخوردار بودند. نتایج این تحقیق بیانگر افزایش توان مقاومت به تنش خشکی و بهبود عملکرد گیاه همیشه‌بهار در شرایط تنش با اعمال پرایمینگ بذر با اسید سالسیلیک و نانواکسید آهن و نانواکسید روی بود که در کشاورزی پایدار قابل توصیه است.

واژگان کلیدی: اسیدهای آلی؛ پراکسیداز؛ پرایمینگ؛ پرولین؛ کاتالاز؛ نانو کود.

مقدمه

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی علفی، یک‌ساله و به ندرت دوساله با ساقه منشعب و سفت است که منشأ آن نواحی مدیترانه‌ای بوده و به خانواده آستراسه تعلق دارد [۹]. تنش خشکی مرحله اول رشد گیاه و استقرار آن، به ویژه طویل شدن و توسعه سلول‌ها را محدود می‌کند [۱۵]. استقرار ضعیف گیاه‌چه به دلیل خشکی یکی از مهم‌ترین مشکلات مناطق نیمه‌خشک است، در این میان افزایش سرعت جوانه‌زنی اهمیت زیادی

در بهبود استقرار گیاهان زراعی دارد. این مهم می‌تواند از طریق پیش تیمار حاصل گردد. پیش تیمار بذر سبب بهبود جوانه‌زنی و استقرار اولیه گیاه، بهره‌برداری از نهاده-های محیطی، زودرسی، افزایش کمی و کیفی محصول و همچنین بهبود کیفیت غذایی دانه می‌شود [۱۰]. مدت‌زمان مناسب پیش تیمار بذر بین چند ساعت تا چند هفته و درجه حرارت مناسب بین ^{o}C ۱۲-۸ بسته به گونه گیاهی گزارش‌شده است [۱۲]. به نظر می‌رسد که پیش تیمار بذر، درصد جوانه‌زنی را از طریق کاهش صدمه به پروتئین‌ها، RNA و DNA افزایش می‌دهد [۲۵].

افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز نیز تحت‌تأثیر تیمارهای پیش تیمار گزارش شده است [۱]. مزایای آماده‌سازی بذر شامل بالا بردن مقاومت گیاه در مناطق تحت تنش شوری و خشکی، افزایش عملکرد بذرهایی با بنیه پایین، شکست خواب بذر و همچنین افزایش محصول است [۱۳]. بر اساس نتایج منتشر شده از تحقیقات مختلف، پیش تیمار بذر موجب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز می‌شود [۴].

تنش شوری و خشکی منجر به تأثیر تغییرات پتانسیل اسمزی روی محدوده وسیعی از فعالیت‌های متابولیکی گیاهان می‌شود. با تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپر اکسیدها و رادیکال‌های پراکسید هیدروژن منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، محصول تنش یونی و اسمزی شدید هستند که باعث به هم ریختن ساختار غشاء و مرگ سلول می‌شوند [۲۶]. گیاهان در مقابله با این اکسیژن‌های واکنش‌پذیر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خاص از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردکتاز و سوپر اکسید دسموتاز را افزایش می‌دهند [۲۰].

تحقیقات مینی بویا و همکاران (۲۰۱۲) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل آنزیم لیپواکسیژناز، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات، پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز در گوجه‌فرنگی تحت تنش NaCl افزایش می‌یابد [۱۸]. یکی از اثرات تنش خشکی، تغییر در میزان در دسترس بودن عناصر غذایی و جذب و انتقال آن‌ها در گیاه است و آنزیم پراکسیداز در شکستن هیدروژن پراکسید نقش دارد و در دیواره سلولی، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و واکوئل یافت می‌شوند [۲۹].

آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، از مهم‌ترین آنزیم‌های خنثی‌کننده پراکسید هیدروژن در گیاهان هستند، زیرا آن‌ها حاوی آهن هستند و فعالیت آن‌ها تحت‌تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد [۲۱]. گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد [۲۶]. ایزدخواه و همکاران (۲۰۰۹) تأکید کردند که اثر سودمند پیش تیمار و بذور درشت بر ویژگی‌های کمی و کیفی سوخ پیاز، استقرار گیاهچه‌ها، استفاده بهتر از نور، رطوبت، عناصر غذایی و تجمع بیشتر ماده خشک در اندام‌های گیاهی و انتقال مجدد آن‌ها نسبت داده شده است [۱۳].

بر اساس نتایج مطالعه ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۷) بر روی گیاه همیشه‌بهار، یکی از ساز و کارهای دفاعی در مقابل تنش‌های گوناگون، تولید ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان است. در واقع این گیاه با افزایش قابلیت حذف گونه‌های اکسیژن فعال از طریق آنزیم‌ها و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان، از خود در برابر تنش محافظت می‌کند [۹].

هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی تأثیر آماده‌سازی پیش از کاشت بذر در راستای افزایش مقاومت به تنش خشکی و بررسی تأثیر انواع روش‌های پیش تیمار بذر بر عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی همیشه‌بهار در رژیم‌های مختلف آبیاری بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار بذر بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی همیشه‌بهار، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در طی سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۵ به‌صورت مرکب (تکرار در مکان) در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و سلماس با طول جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۲ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۴۴ درجه و ۴۶ دقیقه و ۴۰ ثانیه شرقی اجرا

شد. فاکتور اول آبیاری در دو سطح شامل آبیاری نرمال (آبیاری منظم طبق عرف زارع تا زمان برداشت) و قطع آبیاری کامل در مرحله شروع گلدهی (نحوه اعمال تیمار تنش خشکی مطابق طرح به این صورت بود که بلافاصله بعد از رسیدن گیاهان به مرحله تیماری مدنظر، آبیاری به طور کامل در آن مرحله قطع شد). فاکتور دوم پیش تیمار با مواد نانو در سه سطح شامل پیش تیمار با محلول نانواکسید آهن، نانواکسید بور، نانواکسید روی با غلظت دو در هزار و پیش تیمار با مواد آلی در سه سطح (پیش تیمار با محلول اسید هیومیک ۷۲ میلی‌گرم در لیتر، اسید سالسیلیک ۲۰۰۰ میکرو مول و اسید آسکوربیک ۲۰۰ پی پی‌ام) و شاهد (بدون پیش تیمار) بود.

کودهای نانو محصول شرکت دانش‌بنیان احرار شرق (خضراء) بود. بذور در سه سانتیمتری زیر سطح خاک در تاریخ ۱۳۹۵/۰۲/۱۰ به‌صورت خطی کشت شد. گیاهان کاشته شده در ردیف‌هایی به فاصله ۳۰ سانتیمتر از هم و با فاصله ۸ سانتی‌متر از هم بر روی ردیف استقرار یافتند. با توجه به فواصل کشت ذکرشده، کرت‌های آزمایش شامل ۱۲ ردیف (۲ ردیف حاشیه و ۶ ردیف برای برداشت گل و ۴ ردیف برای برداشت دانه) به طول ۲/۵ متر در نظر گرفته شدند. این آرایش کاشت ۴۱۵۰۰۰ بوته در هر هکتار ایجاد کرد. برای تعیین ویژگی‌های خاک محل آزمایش، قبل از کاشت، از چند نقطه و به‌صورت تصادفی، عمق ۳۰- ۰ سانتیمتری نمونه‌برداری گردید. خاک مزرعه آزمایشی دارای بافت لوم رسی بود و مزرعه قبل از کاشت طبق نتایج بررسی و نیاز کودی، کوددهی شد. برخی از ویژگی‌های خاک محل آزمایش نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

اولین آبیاری پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی در شرایط عدم تنش برحسب شرایط اقلیمی منطقه (جدول ۲) به فاصله هر پنج روز یک‌بار تا آخر فصل رشد انجام شد. در شرایط تنش قطع آبیاری در مرحله شروع گلدهی انجام شد. برای اطمینان از استقرار یکنواخت بوته‌های همیشه‌بهار، کشت بذور با تراکم بالا صورت گرفت. سپس گیاهان سبز شده در مرحله چهار برگی تنک شد. علف‌های هرز در طول فصل رشد از طریق وجین دستی کنترل شد.

از نظر آفت مزرعه، برای کنترل شته در مرحله دانه‌بندی گیاه، از حشره‌کش دیازینون به میزان ۱/۵ لیتر در هکتار استفاده شد. در این آزمایش برای تعیین مقادیر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات بیوشیمیایی ۱۰ روز قبل از برداشت نهایی (۱۱۱ روز پس از کشت) نمونه‌هایی از برگ‌های جوان تهیه شد. متغیرها و صفاتی که در این بررسی مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفتند شامل پرولین، پروتئین محلول، کاتالاز، پراکسیداز، درصد روغن، عملکرد روغن و وزن هزار دانه بودند.

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک

سال	مکان	عمق	EC (dS.m^{-1})	pH	OC (%)	N (%)	P (mg.kg^{-1})	K (mg.kg^{-1})	Zn (mg.kg^{-1})	Fe (mg.kg^{-1})	Mn (mg.kg^{-1})	Cu (mg.kg^{-1})	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)
۹۵	ارومیه	۳۰-۰	۰/۸۳	۷/۹	۰/۸۰	۰/۰۸	۴/۲	۱۷۸	۰/۵۲	۳/۸	۹/۱۲	۱/۱۲	۲۶	۴۲	۳۶
	سلماس	۳۰-۰	۱/۰۷	۷/۹	۰/۵۱	۰/۰۴	۳/۵	۱۴۵	۰/۰۳۱	۳	۶/۲	۰/۷۹	۲۶	۳۱	۴۶
۹۶	ارومیه	۳۰-۰	۱/۲۰	۷/۵	۰/۸۲	۰/۰۸	۵	۱۵۰	۰/۸	۴/۶	۱۰/۶	۱/۱۴	۲۹	۲۵	۳۲
	سلماس	۳۰-۰	۱/۷۰	۷/۴	۰/۶۱	۰/۰۶	۳/۶	۱۲۰	۰/۴	۴	۶/۶	۰/۸۸	۲۷	۳۲	۳۴

عملکرد و درصد روغن

برای محاسبه عملکرد روغن، ابتدا درصد روغن توسط دستگاه R.M.N در آزمایشگاه بخش تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری درصد روغن ابتدا حدود ۳ گرم از بذرهای به‌طور کامل تمیز شده توسط ترازوی مدل AND با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید. سپس این بذرها به داخل لوله آزمایش مخصوص دستگاه ریخته شد و در داخل دستگاه قرار داده شد، سپس با واردکردن وزن دقیق بذرها به کامپیوتر متصل به دستگاه، درصد روغن خوانده شد. میزان عملکرد روغن نیز از حاصل‌ضرب درصد روغن در میزان عملکرد دانه محاسبه شد[۸].

قند محلول

یکی از اجزای بسیار مهم و تأثیرگذار بر عملکرد دانه، وزن هزار دانه آن است. وزن هزار دانه نیز به‌وسیله دستگاه بذرشمار آزمایشگاه بخش تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان غربی تعیین شد.

روش اندازه‌گیری پرولین

ابتدا به منظور تعیین پرولین، ۰/۵ گرم جوانه را در هاون چینی له و به آن ۵ سی‌سی اتانول ۹۵ درصد افزوده شد. در این مدت برای جلوگیری از ادامه واکنش، لوله‌ها در مخلوط آب و یخ قرار گرفت. برای حذف ناخالصی آن دوباره با اضافه کردن ۵ سی‌سی اتانول ۷۰ درصدکاملاً له به محتویات لوله آزمایش اضافه شد. سپس در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵دقیقه در دور ۱۵۰۰ ناخالصی‌های آن به‌طور دقیق جدا گردید. در این حالت این عصاره به عنوان عصاره پایه برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد [۱۶].

یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی اشاره شده را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق و ۱۵ میلی‌لیتر معرف نین-هیدرین به آن اضافه شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال به آن افزوده شد. مخلوط حاصل پس از به هم زدن، به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از بیرون آوردن از حمام آب جوش و خنک شدن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به هرکدام از نمونه‌ها افزوده و به‌شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شد. استانداردهایی از پرولین (صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر) تهیه گردید و در آخر میزان جذب محلول‌های استاندارد و نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [۱۶].

جدول ۲- داده‌های هواشناسی و اقلیمی محل‌های کشت در طی سال زراعی ۹۵-۹۶

	مکان							
	ارومیه				سلماس			
	کمینه دما (°C)	بیشینه دما (°C)	رطوبت نسبی (%)	بارندگی (mm)	کمینه دما (°C)	بیشینه دما (°C)	رطوبت نسبی (%)	بارندگی (mm)
ماه								
فروردین	۱۲/۲	۲۶/۸	۳۹	۱۳/۳	۱۰/۹	۲۴/۶	۳۶	۲۵/۴
اردیبهشت	۱۷/۵	۳۲/۴	۲۴	۲/۷	۱۵/۹	۳۰/۴	۲۷	۴/۸
خرداد	۲۲/۳	۳۶/۱	۲۶	۱/۱	۲۰/۸	۳۵/۹	۲۶	۹/۲
تیر	۲۳/۹	۳۹/۳	۲۹	۰/۵	۲۳/۲	۳۷/۷	۲۵	۳/۸
مرداد	۲۲/۴	۳۷/۵	۲۷	۰/۷	۲۱/۸	۳۶/۴	۲۸	۰/۱
شهریور	۱۷/۶	۳۳/۷	۳۵	۵/۴	۱۶/۵	۳۲/۷	۳۷	۲/۱

پروتئین محلول

میزان پروتئین محلول گیاهچه به روش برادفورد اندازه‌گیری و در طول‌موج ۵۹۵ با دستگاه طیف‌سنج UV-vis مدل LAMBDA EZ ۲۱۰ قرائت گردید. غلظت پروتئین برحسب میکروگرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید [۱۶].

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه‌گیری آنزیم به ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیم دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی مولار با pH برابر با ۶، ۰/۵ میلی‌لیتر گایاکول ۲۸ میلی مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 پنج میلی‌مولار اضافه کرده و در طول‌موج ۴۷۰ قرائت گردید. فعالیت آنزیمی به‌صورت افزایش جذب در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه گردید [۲۹].

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز

برای اندازه‌گیری آنزیم به ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی مولار با pH برابر ۶/۸؛ ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2، ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر، قرائت شد. تجزیه

H_2O_2 با کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر دنبال گردید و به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد[۷].

تجزیه و تحلیل داده‌ها

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و MSTAT-c و مقایسه میانگین اثرات اصلی حداقل میانگین مربعات در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون LSD انجام گردید. لازم به ذکر است اثر مکان در مدل تجزیه واریانس در هیچ‌کدام از صفات موردمطالعه معنی‌دار نبود، بنابراین در ابتدا اثرات متقابل (مکان و پیش تیمار، مکان و تنش خشکی، مکان و تنش خشکی و پیش تیمار) در مدل قرار گرفت و به علت اینکه معنی‌دار نبود از مدل نهایی حذف شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده پیش تیمار بذر با مواد آلی و نانو و تنش خشکی بر روی همه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثرات متقابل پیش تیمار بذر با مواد آلی و نانو و تنش خشکی بر روی صفات پرولین، کاتالاز، پراکسیداز، وزن هزار دانه، عملکرد و درصد روغن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی بر روی پروتئین محلول معنی‌دار نبود (جدول ۳).

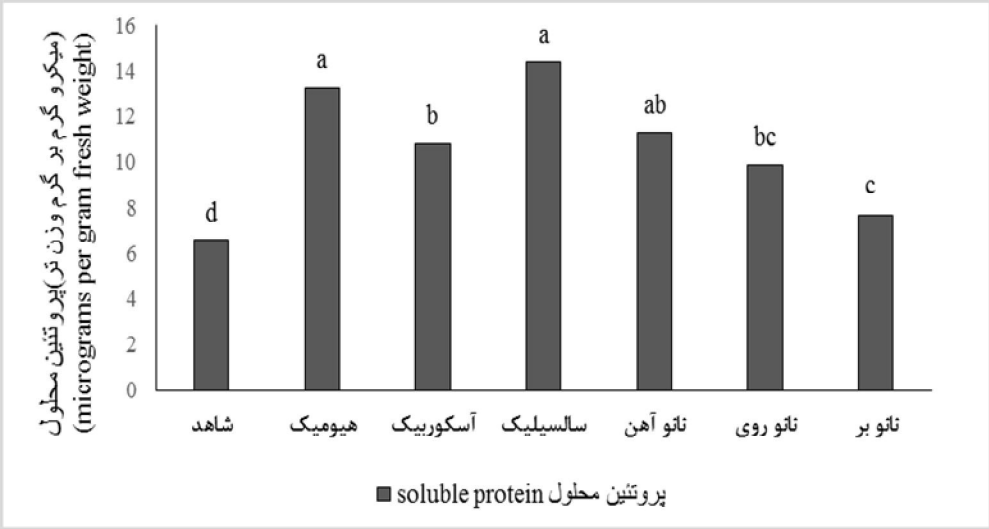
جدول ۳- جدول تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و پیش تیمار بذر بر صفات موردمطالعه همیشه‌بهار

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	پروتئین محلول	کاتالاز	پراکسیداز	درصد روغن	عملکرد روغن	وزن هزار دانه
مکان	۱	۰/۶۴۱ ns	۰/۹۳۵ ns	۰/۲۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۹۲/۹۴۶ ns	۴۱۴۳/۴۸۵ ns	۲/۳۹۵ ns
تکرار	۲	۰	۰/۲۶۳	۰/۱۵۲۴	۰/۰۰۰۲	۰/۹۱۱	۹۵۹/۴۵۳	۰/۳۶۶
تنش خشکی	۱	۰/۹۲۲**	۹/۷۹۳**	۰/۷۱۸**	۰/۰۲۱**	۱۲/۸۸۶**	۲۱۷۹۷/۴۲۶**	۱۶/۴۹۴**
پیش تیمار	۶	۰/۱۳۰**	۰/۳۵۲**	۰/۰۵۲۸**	۰/۰۰۴**	۱۸۰/۵۲۸**	۲۷۲۵۴/۳۴۴**	۳/۶۱۵**
تنش خشکی*پیش تیمار	۶	۰/۱۱۶**	۰/۰۸۹ ns	۰/۲۹۸**	۰/۰۱۶**	۰/۵۰۳**	۱۶۳/۵۳۶**	۰/۲۹۸**
خطا	۵۲	۰/۰۶۰	۰/۲۴۵	۰/۰۴۹	۰/۰۵	۰/۲۴۵	۱۰۷/۸۳۹	۰/۰۴۹
ضریب تغییرات	-	۱۲/۱۹	۱۳/۳۶	۰/۱۴۵	۰/۷۹۴	۲/۲۲	۱۶/۴۹	۳۰/۱۵

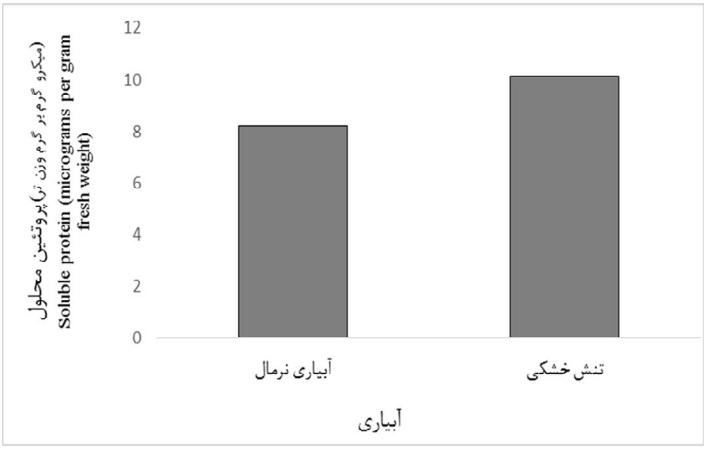
ns ،*و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار و وجود تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال خطای ۵٪ و ۱٪ می‌باشند.

پروتئین محلول

نتایج تجزیه مرکب داده‌های آزمایش نشان داد که اثر ساده پیش تیمارهای آزمایش بر پروتئین محلول در سطح احتمال یک درصد اختلاف آماری معنی‌داری داشتند (جدول۳). نتایج مقایسه میانگین میزان پروتئین محلول کل (شکل۱) نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین محلول در شرایط پیش تیمار با اسیدسالسیلیک ۱۴/۳۷ میکروگرم بر گرم وزن‌تر به دست آمد که نسبت به شاهد بدون پرایم ۶/۵۷ میکروگرم بر گرم وزن‌تر و با مقادیر تیمارهای دیگر نیز اختلاف معنی‌داری داشت. در خصوص اثر ساده تنش خشکی نیز بیشترین مقدار پروتئین محلول۱۰/۱۴ میکروگرم بر گرم وزن‌تر بود که نسبت به حالت آبیاری نرمال (غیر تنش) به میزان ۱۲ درصد افزایش داشت. تیمار اسید سالسیلیک احتمالاً فعالیت نیترات ردوکتاز را محافظت می‌کند و محتوای پروتئین و نیتروژن برگ را در سطحی برابر با گیاهچه‌هایی که در شرایط آب کافی بودند، نگه می‌دارد [۲۳]. نتایج تحقیق نشان داد که اسید سالسیلیک می‌تواند به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد بالقوه برای بهبود رشد گیاه تحت تنش آبی استفاده شود [۲۱]. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج عباس دخت، عدالت‌پیشه و ابراهیمی و همکاران مطابقت دارد [۱ و۲]. محققین در تحقیق خود نشان دادند که تنش خشکی محتوای پروتئین کل را افزایش داده و این افزایش در رقم مقاوم بیشتر بود [۵].



شکل ۱- مقایسه‌های میانگین اثر ساده پیش تیمار بذر بر درصد پروتئین محلول (ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند ازنظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار هستند).



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین اثر ساده تنش خشکی بر درصد پروتئین محلول

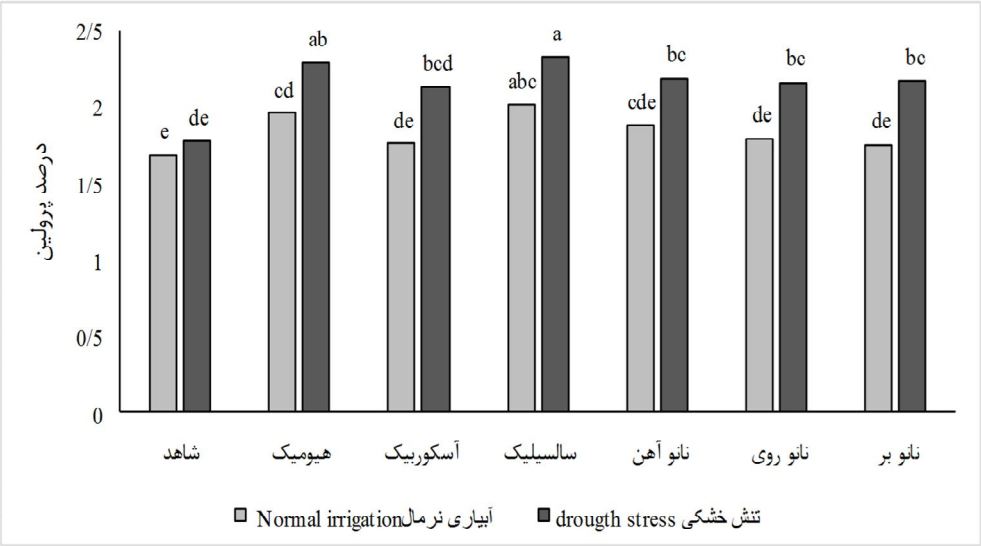
محتوای پرولین برگ

نتایج تجزیه مرکب داده‌های آزمایش نشان داد که اثر متقابل پیش تیمار بذر و رژیم آبیاری (خشکی) بر روی مقدار پرولین در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول۳). با توجه به شکل ۳، نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل دو فاکتور نشان داد در شرایط تنش خشکی میزان پرولین در برگ افزایش‌یافته و مقدار پرولین در پیش تیمار با اسید سالسیلیک و تنش خشکی در بیشترین مقدار خود (۲/۳۲۸ درصد) و کم‌ترین مقدار پرولین برگ مربوط به تیمار شاهد و تنش خشکی به میزان ۲/۱۲۵ درصد بود. در شرایط غیر تنش و آبیاری نرمال نیز بیشترین مقدار و درصد پرولین مربوط به تیمار با اسید سالسیلیک بود.

افزایش غلظت پرولین تحت تنش ممکن است نشان‌دهنده نقش احتمالی این اسیدآمینه در مقاومت به تنش خشکی باشد. به علاوه، تجمع پرولین ممکن است به توسعه واکنش‌های ضد تنشی القاء شده به‌وسیله سالسیلیک اسید وزنده‌مانی گیاه در دوره‌های کوتاه خشکی کمک کند [۱۶].

اسیدآمینه پرولین جزء ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی به شمار می‌رود و تجمع آن در بافت یکی از بیشترین تغییرات القاء شده ناشی از تنش آبی یا شوری در گیاهان است. برای تجمع پرولین در گیاه به هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی ارائه‌شده است. برخی آن را به اثر تنظیمی آبسزیک اسید بر فرآیندهای نوری در متابولیسم پرولین

[۳۰] و برخی آن را بـه وجـود ترکیبات پرانرژی حاصـل از فتوسنتز که سبب تحریک سنتز پـرولین می‌شـود، نسـبت می‌دهند [۲]. در تحقیقی بر روی نخـودفرنگی نیـز میـزان افزایش پرولین براثر تـنش خشـکی بـین ۴ تـا ۴۰ برابـر گزارش شد، ولی ارتباط معنی‌داری بین افـزایش پـرولین و تنظیم اسمزی مشاهده نشد [۲۷].



شکل ۳- نمودار مقایسات میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر درصد پرولین برگ

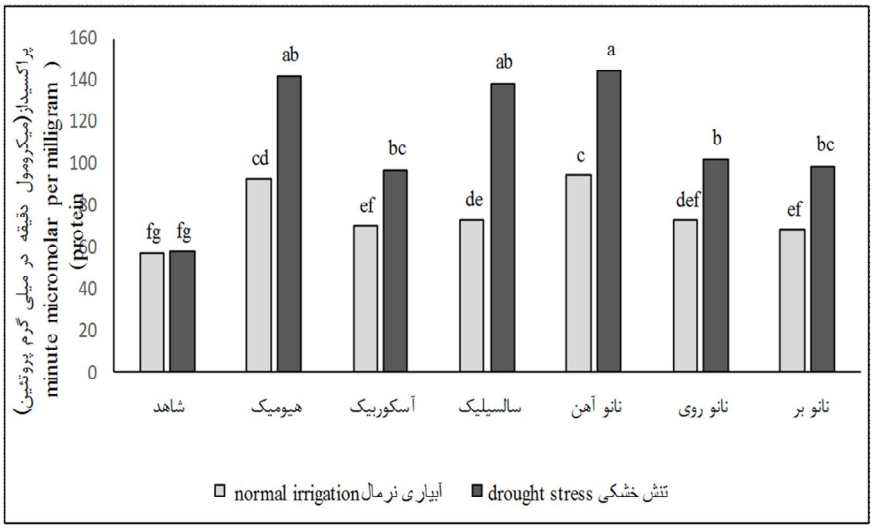
آنزیم پراکسیداز

با توجه به نتایج تجزیه مرکب داده‌های آزمایش و نتایج مقایسه میانگین اثر ساده و متقابل تـنش خشـکی و پـیش تیمـار، در سـطح احتمـال یـک درصـد معنـی‌دار شـده و مشخص شد که تیمارهای مختلف پیش تیمار بذر در برابـر تنش خشکی رفتارهای متفاوتی نشان دادند (جدول۳).

پـیش تیمـار بـا کودهـای آلـی و نـانو فعالیـت آنـزیم پراکسیداز را به‌طور معنی‌داری تحت تـأثیر قـرارداد کـه بـا توجه به شکل ۴ بیشترین میزان فعالیت آنـزیم پراکسـیداز در شـرایط تـنش و غیـر تـنش در تیمـار پـیش تیمـار بـا نانواکسید آهن بوده که به ترتیـب بـا میـانگین ۱۴۴/۱۷ و ۹۳/۶۶ میکرو مول دقیقه در میلی‌گـرم پـروتئین مشـاهده گردید (شکل۴). گزارش‌شده میزان فعالیت ایزو آنزیم‌هـای پراکسیداز در برگ‌های کدو تنبل در محلـول غـذایی فاقـد آهن در فرآینـد خنثی‌سـازی پراکسـید هیـدروژن کـاهش می‌یابد [۳۰]. بنابراین می‌توان بیان نمود کـه در گیاهـان، مهم‌ترین آنزیم‌های خنثی‌کننده پراکسید هیدروژن، یعنـی کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، آنزیم‌های حاوی عنصر آهن هستند.

عناصر کم‌مصرف مانند آهن، روی، مس و منگنز، نقـش مهمـی بـه‌عنوان کـو فـاکتور در سـاختمان تعـدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسـیدان بـازی می‌کننـد [۲۴]. بنـابراین، هنگامی‌که گیاهان بـا کمبـود ایـن عناصـر مواجـه باشـند، فعالیـت آنـزیم‌هـای آنتـی‌اکسـیدانی کـاهش می‌یابـد و حساسیت به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابـد. از طرفـی تنش اکسیداتیو باعث کاهش تولید کلروفیل مـی‌شـود کـه پیامد آن، آسیب به دستگاه فتوسنتزی است [۲۷].

این موضوع بـه دلیـل تغییـر و تبـدیل پـروتئین‌هـای مجموعه فتوسیستم II صورت می‌گیرد، بنابراین، افـزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان در اثر مصرف نانواکسـید آهـن، به‌خصوص در شرایط تنش خشکی، می‌تواند موجـب حفـظ و پایداری غشاهای سلولی و افزایش توان ظرفیت سیسـتم فتوسنتزی گیاه شود، زیرا از این طریق می‌تواننـد صـدمات ناشـی از تـنش اکسـیداتیو را کـاهش داده کـه نتیجـه آن، افـزایش عملکـرد دانـه و در پـی آن عملکـرد اسـانس است [۲۰].

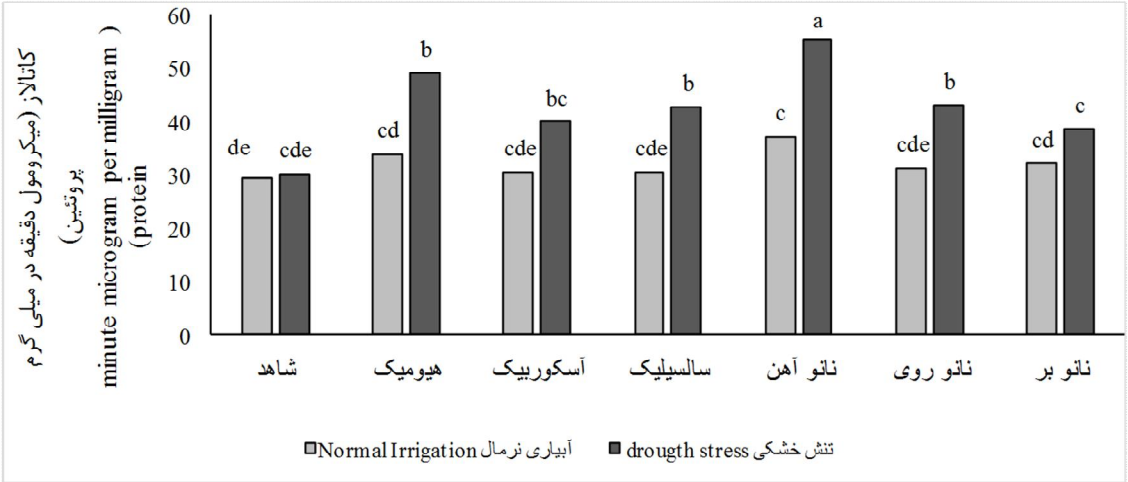


شکل ۴- نمودار مقایسات میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر محتوی پراکسیداز

آنزیم کاتالاز

با توجه به نتایج تجزیه مرکب داده‌ها اثر تنش خشکی و پیش تیمار بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل آن‌ها نیز معنی‌دار بود (جدول۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش، پیش تیمار با نانواکسید آهن، تأثیر معنی‌داری در میزان آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی داشت. مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی در تیمار نانواکسید آهن به میزان ۵۵/۳۶ میکرومول دقیقه در میلی‌گرم پروتئین به دست آمد و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد به میزان ۳۰/۱۹ میکرومول دقیقه در میلی‌گرم پروتئین مشاهده گردید (شکل ۵). سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش‌های محیطی است [۱۴].

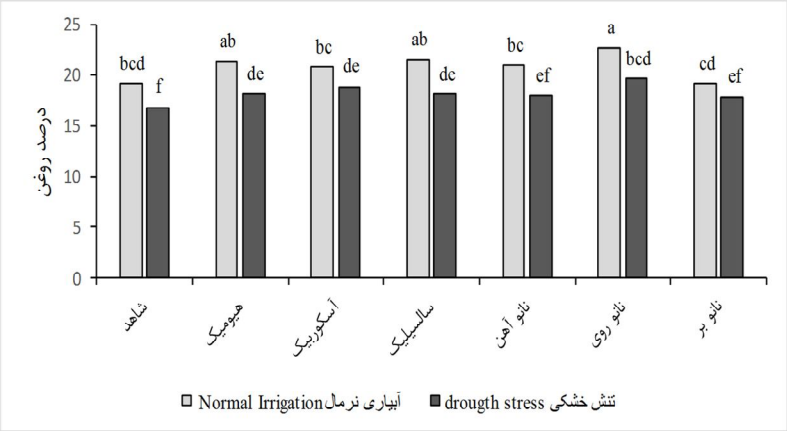
کمبود آهن در گیاهان نه‌تنها موجب کلروز می‌شود، بلکه فعالیت آنزیم‌های مشخصی مانند کاتالاز و پراکسیداز را نیز کاهش می‌دهد. زیرا این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین هستند و به‌عنوان گروه‌های پروستتیک، نقش ویژه‌ای را در متابولیسم گیاهی ایفا می‌کنند [۲۶]. چنین به نظر می‌رسد که پیش تیمار با ترکیبات نانواکسید آهن، باعث کاهش اثر سوء و مخرب تنش خشکی شده باشد [۲۴].



شکل ۵- نمودار مقایسات میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر محتوی کاتالاز

درصد روغن

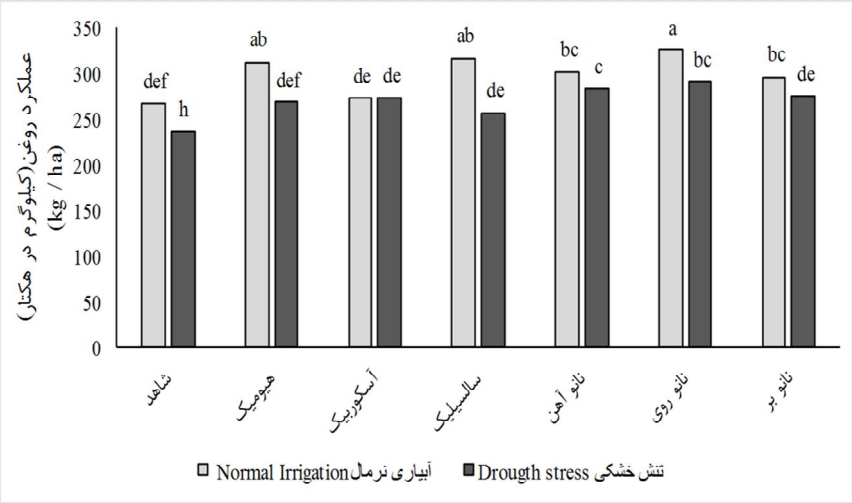
نتایج تجزیه مرکب آزمایش نشان داد که صفت درصد روغن تحت تأثیر کاربرد پیش تیمار (کودهای نانو و مواد آلی) و تنش خشکی قرار گرفته و اثرات ساده و متقابل پیش تیمار و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با توجه به شکل ۶ بیشترین درصد روغن در شرایط تنش و غیر تنش در تیمار پیش تیمار با نانو اکسیدروی به ترتیب با میانگین ۱۹/۶۲ و ۲۲/۷۶ درصد مشاهده گردید. اسماعیلیان و همکاران (۲۰۱۴) نیز با مقایسه اثر نسبت‌های مختلف کودهای آلی و شیمیایی‌بر عملکرد روغن دانه آفتابگردان به نتیجه مشابهی دست یافتند [۱۲]. در همین راستا عربی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند هرچند با کاهش میزان آب مصرفی و در پی آن بروز تنش خشکی از عملکرد، میزان اسانس و درصد روغن در گیاه ریحان کاسته شد، اما با به‌کارگیری کودهای آلی و روی در سطوح بالای تنش تا حدی اثر سوء تنش خشکی بر عملکرد را کاهش داد [۳]. با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد افزایش درصد روغن در گیاه همیشه‌بهار با پیش تیمار مواد نانو به دلیل بهبود جذب عناصر غذایی و همچنین اثر مثبت بر فتوسنتز برگ رخداده باشد [۲۳]. از آن‌جایی‌که تولید روغن نیاز به انرژی بسیار بیشتری در مقایسه با تولید نشاسته دارد، بنابراین وجود سطح سبزینه مطلوب و فعال که توان فتوسنتزی بالایی داشته باشند به‌واسطه بهبود انرژی در گیاه، اثر مطلوب‌تری بر این صفت کیفی خواهد داشت [۱۹].



شکل ۶- نمودار مقایسات میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر درصد روغن

عملکرد روغن

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد اثر ساده و متقابل پیش تیمار و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد روغن، از لحاظ آماری معنی دار شدند. مطابق شکل ۷، بیشترین درصد روغن در شرایط غیر تنش و تنش در تیمار پیش تیمار با نانو اکسیدروی به میزان ۳۲۴/۸ و ۲۹۰/۴ کیلوگرم در هکتار و کمترین به میزان ۲۳۶/۱ کیلوگرم در هکتار از تیمار شاهد در شرایط تنش خشکی به دست آمد. این تأثیر می‌تواند به دلیل نقش ویژه این عنصر در افزایش فعالیت‌های متابولیکی به ویژه واکنش‌های منتج به ساخت روغن باشد [۲۰]. کمبود روی باعث جلوگیری از فعالیت تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود که نتیجه آن خسارت شدید به غشای لیپیدی می‌باشد و این امر می‌تواند باعث کاهش میزان روغن دانه شود [۷]. عنصر روی می‌تواند اثر مطلوبی بر فعالیت‌های فتوسنتزی برگ و انتقال بهتر مواد فتوسنتزی داشته باشد. بر اساس نتایج تحقیقات انجام‌شده بر روی جوانه‌زنی بادام‌زمینی، شکل‌گیری اندام‌های جنسی نر و ماده و فرآیند گرده‌افشانی بر اثر کمبود روی مختل شده و منجر به کاهش شدیدی در عملکرد می‌شود که این موضوع به کاهش تولید ایندول استیک اسید (IAA) نسبت داده شده است [۲۲].

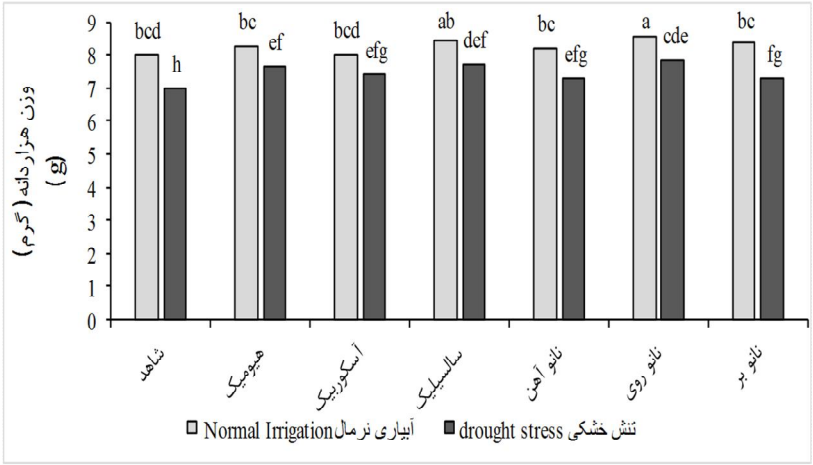


شکل ۷- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر عملکرد روغن

وزن هزار دانه

با توجه به نتایج تجزیه مرکب داده‌ها، اثر ساده تنش خشکی، پیش تیمار و اثر متقابل این عامل در سطح یک درصد بر وزن هزار دانه معنی‌دار بود. در این بررسی صفت وزن هزار دانه تحت‌تأثیر تیمار پیش تیمار و تنش خشکی قرار گرفت، با این‌وجود با اعمال تنش، وزن هزار دانه کاهش یافت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین مقادیر وزن هزار دانه مربوط به تیمار پیش تیمار با نانواکسید روی در مرحله آبیاری نرمال به میزان ۸/۵۵۵ گرم و تیمار پیش تیمار با نانواکسید روی در شرایط تنش به مقدار ۷/۸۵۵ گرم و کمترین مقدار وزن هزار دانه در شرایط آبیاری نرمال و تنش مربوط به تیمار شاهد به میزان ۸/۰۱۳ و ۷/۰۰۶ گرم بود (شکل ۸).

به نظر می‌رسد چون در مرحله گلدهی گیاه با تنش کم‌آبی مواجه شده است و درنتیجه مکانیسم خودتنظیمی گیاه بر پایه تعداد محدودی دانه در کاپیتول بناشده است، درنتیجه گیاه در ادامه رشد توانایی پر کردن این تعداد دانه را دارا هست. از طرفی صفت وزن هزار دانه کمتر تحت تأثیر شرایط نامطلوب محیطی قرار می‌گیرد، درصورتی‌که سایر اجزای عملکرد بیشتر از عوامل محیطی تأثیر می پذیرند. مالکی فراهانی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند کاهش وزن هزار دانه جو در شرایط تنش خشکی به علت کوتاه شدن دوره پر شدن دانه و پیری زودرس است [۱۷].



شکل ۸- نمودار مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیمار و تنش خشکی بر وزن هزار دانه

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این مطالعه، بالاترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و کاتالاز در پیش تیمار بذر با ترکیبات نانو (نانواکسید آهن) مشاهده شد؛ که این ویژگی‌های فیزیولوژیکی باعث عملکرد بالا و مقاومت به تنش خشکی در گیاه همیشه‌بهار گردید. همچنین، نتایج نشان داد که با تشدید تنش خشکی، عملکرد دانه کاهش قابل‌توجهی داشت. در خصوص درصد و عملکرد روغن و وزن هزار دانه بالاترین عملکرد مربوط به‌پیش تیمار بذر با ترکیبات نانو (نانواکسید روی) بود. همچنین، با افزایش تنش کم‌آبی میزان پرولین افزایش یافت که این میزان در تیمار بذر با سالسیلیک اسید بیشتر بود. در این تحقیق پرایمینگ بذر با اسید سالسیلیک با کاهش خسارت گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش میزان سنتز پروتئین‌های محلول، موجب جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا شد. نتایج این تحقیق بیانگر افزایش توان مقاومت به تنش خشکی و بهبود عملکرد همیشه‌بهار در شرایط تنش با اعمال پرایمینگ بذر با اسید سالسیلیک و نانواکسید آهن و نانواکسید روی بود.

References

[1]. Abbasdokht, H. and Justice, M. (2008). Priming, Types and Its Role in Agriculture. The first national conference on seeds science and technology in Iran. Gorgan University of *Agricultural Sciences and Natural*.

[2]. Amini, H., Arzani, A. and Bahrami, F. (2013). Seed yield and some physiological traits of safflower as affected by water deficit stress. *International Journal of Plant Production*, 7: 597-614.

[3]. Arbabi, J., Cyrus Mehr, A., Asghiripour, R., and Nazirzadeh, A.S. (2013). Effect of drought stress levels and types of organic fertilizers on growth and yield of basil. *National Conference on Passive Defense in Agriculture*. Qeshm

[4]. Asghari, M., Eradatmand Asli, D., Yosefirad, M. and Ghandian, M. (2013). The effect of pyridoxine and its duration application on bioactive compounds and biochemical activities of Germinated wheat. Ann. *Biol. Res*. 4 (3): 31-36.

[5]. Behbodi, S., Ahmadi, J., Shanjat, A. and Haddad, R. (2010). Study protein profiles of wheat during germination under abiotic non-stress conditions. *M.Sc. thesis*, Imam Khomeini International University.

[6].Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-*dye binding. Annu. Rev. Biochem*. 72: 248-254.

[7].Cacmak, I. and Horst, W. (1991). Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip soybean. *Plant Physiol*. 83: 463- 468.

[8].Ebrahimi, A. Naqvi, M, R. and Sabokdast, M. (2010). Comparison of different species of barely landraces in terms of chlorophyll, carotenoids, protein and enzyme. Iranian *Journal of Crop Science*, 41(1): 57-65. (in Farsi).

[9]. Ebrahimi, M., Zamani, Gh.R. and Alizadeh, Z. (2017). Study on the effects of water deficit on physiological and yield-related traits of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33(3): 492-508, (in Farsi).

[10]. Farooq, M. Basra, S. M. A. and Ahmad, N.(2007). Improving the performance of transplanted rice by seed priming. *Plant growth Regulatores,* 51:129-137.

[11]. Ghasempour, H.R. and Kianian, J.(2001). Effect of drought stress on free proline, total protein, soluble sugar and protein, plant profiles resurrection grass Sporobolus elongates with high Drought tolerance. *Journal of Science*, 1(2): 75-81. (in Farsi)

[12]. Ismailiyan, Y., Throat, M., Amiri, V. and Heidari, M. (2014). Effect of organic and chemical fertilizers on yield, yield components and quality of sunflower seeds under drought stress conditions. *Journal of Aboukhak Knowledge*, 3 (24): 189-175.

[13]. Izadkhah Shishvan, M., Tajbakhsh Shishvan, M., Jalilian,J., and Pasban-Islam,B. (2009). Evaluation of the effect of seedlings and seedlings on quantitative and qualitative characteristics of Allium cepa genotypes *Journal of plant production,* 39(4): 15-30.

[14]. Jabeen, N. and Ahmad, R. (2013). The activity of antioxidant enzymes in response to salt stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings raised from seed treated with chitosan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(7): 1699-1705.

[15]. Kiani, S.P., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P.(2008). QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under wel-watered and water- stressed conditions. *Plant Sci*. 175: 565-573.

[16]. Lalinia, A.A., Marefatzadeh Khamenh, M., Galostian, M., Majnoon Hoseini, N. and Esmailzade Bahabadi, S. (2012). Echophysiological impact of water stress on growth and development of mungbean. *International Journal of Agronomy and Plant Production*. 3: 599-607.

[17]. Maleki Farehai, S., Mazaheri, M.,Chichi, R., Tavakol Afshari, R. and Savaghebi, G. (2010). Effect of seed vigour on stress tolerance of barely (*Hordeum vulgare*) seed at germination stage. *Seed Science and Technology*. 38: 494-507.

[18]. Minibayeva, F., Dmitrieva, S., Ponomareva, A. and Ryabovol, V. (2012). Oxidative stressinduced autophagy in plants: the role of mitochondria. *Plant Physiology and Biochemistry*. 59: 11-19.

[19]. Mokhtar, M., Arshad, M., Ahmad, M., Pomerantz, R.J., Wigdahl, B. and Parveen, Z. (2008). *Antiviral potentials of medicinal plants*. Virus Res. 131: 111-120.

[20]. Pandey, HC., Baig, MJ., Chandra, A. and Bhatt, RK. (2010). Drought stress induced changes in lipid peroxidation and antioxidant system in genus Avena. *Journal of Environmental Biology*. 31: 435-440

[21]. Pasban Eslam, B. (2011). Evaluation of physiological indices for improving water deficit tolerance in spring safflower. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 13: 327-338.

[22]. Prasad, T.N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, Munaswamy, P., Raja V, Reddy R, Sreep rasad, TS., Sajanlal, P. and Pradeep, T. (2012). Effect of Nano scales zinc oxid on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*. 35: 905-927.

[23]. Shabban, S. H., A., Manal, F. M. and Afifi, M. H. (2009). Humic acid foliar application to minimize soil applied fertilization of surface irrigated wheat. *Agriculture Sciences*. 5(2): 207- 210.

[24]. Soltani, A. (2007). Review in application of statistical method in agriculture researches. *Mashhad Jahade-e-Daneshgahi Publication*. P 73. (in Farsi)

[25]. Soltani, E. and Soltani, A. (2015). Meta-analysis of seed priming effects on seed germination, seedling emergence and crop yield: Iranian studies. *International Journal of Plant Production*. 9(3): 413-432.

[26]. Wiersma, J. V. (2005). High rates of Fe-EDDHA and seed iron concentration suggest partial solutions to iron deficiency in soybean. *Agron*. J. 97: 924–934.

[27]. Wood, A. J. (2005). Eco-physiological adaptions to limited water environments. In: Ajenks M and Hasegawa PM (Eds.), Plant Abiotic Stress. *Blackwell Publisher*, New York, pp. 10-41.

[28]. Xia, F., Chen, L., Sun, Y. and Mao, P. (2015). Relationships between ultrastructure of embryo cells and biochemical variations during ageing of oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture content. *Acta Physiologiae Plantarum*. 37(89): 1-11.

[29]. Yao, Z., Liu, L., Gao, F. and Rampitschi, C. (2012). Development and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre and postgerminative phases in pea. *Journal of Plant Physiology*. 169: 1477-1488.

[30]. Zhu, H., Han, J.J., Xiao, Q. and Jin, Y. (2008). Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal of Environmental Monitoring*. 10: 713-717.

[28]. Xia, F., Chen, L., Sun, Y. and Mao, P. (2015). Relationships between ultrastructure of embryo cells and biochemical variations during ageing of oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture content. Acta Physiologiae Plantarum, 37(89): 1-11.

[29]. Yao, Z., Liu, L., Gao, F. and Rampitschi, C. (2012). Development and seed aging mediated regulation of antioxidative genes and differential expression of proteins during pre and postgerminative phases in pea. Journal of Plant Physiology, 169: 1477-1488.

[30]. Zhu, H., Han, J.J., Xiao, Q. and Jin, Y. (2008). Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. Journal of Environmental Monitoring, 10: 713-717.

The effects of Seed Treatment on Antioxidant Enzymes Activity and yield of Marigold (*Calendula officinalis* L.) under drought stress conditions

1- F. Helali Soltanahmadi, Ph.D. student, Shahrood University, Shahrood, Iran
f_helali82@yahoo.com
2- M.R. Amerian, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University, Shahrood, Iran
3- M. Ghiyasi, Assistant Professor of Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4- H. Abbasdookht, Department of Ecology of Plants, Shahrood University, Shahrood, Iran

Received: 28 Dec 2019
Accepted: 28 Jun 2020

Abstract

In order to reduce the damaging effects of drought stress under pretreatment of Marigold seed (*Calendula officinalis* L.), a factorial experiment under randomized complete block design with three replicates (in place replication) in the field of Urmia Agricultural Research Center and Salmas performed. Experimental factors included irrigation regimes and seed pretreatment, with the first factor irrigated at two levels of regular irrigation and non- irrigation at the beginning of flowering stage and the second factor are seed pretreatment at pre-planting at seven levels including primed seeds with nano fertilizers (Iron oxide, Zinc oxide, Bor oxide was concentrated at 2% per thousand) and primed with organic matter (72 mg humic acid, 2000 µmol salicylic acid and 200 ppm ascorbic acid) and control. Results of analysis of variance showed that the simple effects of seed pretreatment with organic and nano materials on drought stress were significant at 1% probability level. Based on the results of comparison of mean data, oil percentage, oil yield and the weight of one thousand seeds increased with Zinc nano oxide pretreatment by 16, 12 and 8% respectively under drought stress conditions compared to control treatment. Salicylic acid treatment significantly reduced proline accumulation by 13% and soluble protein by 18% compared to control. By applying pre-treatment of nano iron oxide the activity of catalase and peroxidase enzymes increased by 39% and 57% compared to control (non-treated), respectively. Generally, seed pretreatment with different levels of salicylic acid and iron and zinc nano oxide significantly reduced the adverse effects of drought stress on most of the studied traits. Shrubs obtained from seeds treated with salicylic acid, iron nano oxide and zinc nano oxide had higher drought stress tolerance. Results showed that drought tolerance and increase yield of Marigold under drought stress with seed priming with salicylic acid, iron nano oxide and zinc nano oxide are recommended in sustainable and organic farming.

Keywords: Organic acids, Peroxidase, Priming, Proline, Catalase, Nano fertilizer.