

Effect of salicylic acid application methods on seed germination and biochemical characteristics of quinoa seedlings (*Chenopodium quinoa* willd.) under cadmium stress

F. Mahmoudi¹, P. Sheikhzadeh^{2*}, N. Zare³, B. Esmailpour⁴

1. Ph.D Student of Seed Science and Technology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

3. Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

4. Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Received 24 January 2024; Accepted 23 June 2024

Extended abstract

Introduction

Considering that heavy metals are one of the most important environmental stresses in today's agricultural ecosystems, which lead to a decrease in germination, seedling growth, and ultimately plant production. Therefore, it is recommended to use several compounds such as an addition to the culture medium or seed priming to increase the tolerance of plants to environmental stresses. Considering the role of salicylic acid in reducing the effects of heavy metal stress, including cadmium, on germination and seedling growth, this research was conducted to investigate the effect of salicylic acid application methods on seed germination and biochemical characteristics of quinoa seedlings under cadmium stress.

Materials and methods

To investigate the effect of salicylic acid application methods on seed germination and biochemical characteristics of quinoa seedlings under cadmium stress, a factorial experiment based on completely randomized design (CRD) was conducted with four replications at University of Mohaghegh Ardabili. The treatments included the application methods of salicylic acid (seed priming and adding to the culture medium) and cadmium stress at five levels (0, 50, 100, 150, and 200 mg l⁻¹). In this study, the measured traits include the germination percentage, germination rate, germination synchronicity index, mean daily germination (MDG), seedling length, and seedling dry weight, vigor index (VI), mean germination time (MGT), D50, the activity of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase enzymes of quinoa seedlings were investigated. All tests were performed in 3 replications and the mean comparison was based Duncan's Multiple Range test at a 5% probability level. The statistical analysis was carried out using SAS 9.4 and Excel software.

* Corresponding author: Parisa Sheikhzade; E-Mail: sheikhzadehmp@gmail.com



Results and discussion

The results of this research showed that the germination percentage, germination rate, germination synchronicity index, mean daily germination, seedling length, seedling dry weight and, vigor index decreased, and the mean germination time, D50, the activity of catalase, peroxidase and, polyphenol oxidase enzymes increased with the increasing cadmium concentration. Among the salicylic acid application methods (priming and adding to the culture medium), seed priming method had a greater effect on improving the germination percentage, germination rate, germination simultaneity index, mean daily germination, seedling length, seedling dry weight, and increasing vigor index, activity of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase enzymes. Also, the mean germination time and D50 were reduced by seed priming method. Under cadmium stress, Both methods salicylic acid application, there was a significant increase in the activity of antioxidant enzymes in seedlings. Under 200 mg l^{-1} of cadmium concentration, seed priming with salicylic acid caused an increase in the catalase activity (11.27%), peroxidase activity by 6.51 to 9.69%, and polyphenol oxidase activity by 68.39%.

Conclusion

Overall, the results of this study showed that with increasing cadmium stress concentrations, the traits of germination percentage, germination rate, seedling length, seedling dry weight, germination synchrony index, mean daily germination, and vigor index decreased, while the traits of mean germination time, time to 50% germination, and the activities of catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase enzymes increased. Cadmium stress causes ionic imbalance that stimulates the production of reactive oxygen species (ROS), which leads to disruption of cell membranes, osmotic regulation, and the production of secondary metabolites. Considering the negative effect of this stress on germination and growth of the obtained seedlings, among the application methods (priming and adding to the culture medium), seed priming had a greater effect on improving germination, seedling growth and increasing the quinoa seed vigor index, as well as increasing the activity of antioxidant enzymes compared to the method of adding salicylic acid to the planting medium. Priming of quinoa seeds with salicylic acid by shortening the necessary germination time causes primed seeds to germinate faster than control seeds under normal and cadmium-stressed conditions, and by reducing the mean germination time and D50, it reduces cadmium damage and protects the germination process against the toxicity of this heavy metal.

Keywords: Antioxidant enzymes, Germination, Heavy metals, Vigor index

تأثیر روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) تحت تنش کادمیوم

فاطمه محمودی^۱، پریسا شیخ‌زاده^{۲*}، ناصر زارع^۳، بهروز اسماعیل‌پور^۴

۱. دانشجوی دکتری علوم و تکنولوژی بذر، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۲. دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۳. استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۴. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی:	به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های کینوا تحت تنش کادمیوم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی در چهار تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. تیمارها شامل کاربرد اسید سالیسیلیک (پیش‌تیمار بذر و افزودن به بستر کاشت) و تنش کادمیوم در پنج سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش شدت تنش کادمیوم، صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، طول و وزن خشک گیاهچه و شاخص قدرت بذر کاهش یافتند و میانگین مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش یافتند. در بین روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک، پیش‌تیمار نمودن بذرها نسبت به روش اضافه کردن به بستر کاشت، صفات درصد جوانه‌زنی، میانگین سرعت جوانه‌زنی، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، طول و وزن خشک گیاهچه و شاخص قدرت بذر، طول و وزن خشک گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز را به‌طور معنی‌داری افزایش داد؛ اما میانگین مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی را کاهش داد. پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک به هر دو روش در شرایط تنش کادمیوم، موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌ها گردید. در شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم، پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک فعالیت آنزیم کاتالاز را ۱۱/۲۷ درصد، فعالیت آنزیم پراکسیداز را ۶/۵۱ تا ۹/۶۹ درصد و فعالیت آنزیم پل فنل اکسیداز را در حدود ۶۸/۳۹ درصد نسبت به روش اضافه کردن به بستر کشت افزایش داد. در مجموع، پیش-تیمار بذری اسید سالیسیلیک، در سطوح مختلف تنش کادمیوم از راه افزایش توان بذر و گیاهچه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیشترین اثر مثبت را بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های کینوا داشت.

مقدمه

ریشه جلوگیری کند. کادمیوم سرعت جوانه‌زنی بذر را از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند اختلال در جذب آب توسط دانه‌ها محدود می‌کند که در نهایت دسترسی آب را برای رشد چنین کاهش می‌دهد (Anwar et al., 2021). با این حال، تأمین آب تنها محدودیت برای مرحله جوانه‌زنی نیست، بلکه کادمیوم با مهار تحرک نشاسته در آندوسپرم باعث اختلال در

در سال‌های اخیر، آلودگی خاک به فلزات سنگین و آسیب‌های زیست‌محیطی ناشی از آن به‌طور فزاینده‌ای افزایش یافته است (Sheikhzadeh et al., 2021). در بین فلزات سنگین، کادمیوم (Cd) یکی از سمی‌ترین عناصر فلزی بوده که به دلیل حلالیت در آب به‌راحتی توسط پوسته بذر و ریشه گیاه جذب می‌شود و می‌تواند از جوانه‌زنی بذر و رشد

انتقال قندها به سمت محور جنینی در حال رشد شده که این موضوع در نهایت منجر به کمبود عناصر غذایی جنین در حال رشد می‌شود (Basahi, 2021). کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌ها تحت تنش کادمیوم در گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis* L.) (Mahmoudi et al., 2019; Sheikhzadeh et al., 2021)، سورگوم (*Sorghum bicolor*) (Jawad Hassan et al., 2020)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*) (Zhao et al., 2021) و نخود (*Cicer arietinum*) (Singhal et al., 2022) گزارش شده است.

کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd.) گیاهی یک‌ساله از خانواده *Amaranthaceae* است. دانه کینوا به دلیل دارا بودن محتوای بالای پروتئین، ویتامین‌ها، مواد معدنی و عدم وجود گلوتن توسط فائو به‌عنوان یکی از محصولات کشاورزی برای امنیت غذایی در قرن آینده انتخاب شده است (Naik et al., 2020). اگرچه گیاه کینوا تحمل بالایی به تنش فلزات سنگین مانند کادمیوم داشته و در خاک‌های آلوده به کادمیوم رشد می‌کند (Iftikhar et al., 2021; Abdal et al., 2021)، اما تحت این شرایط میزان جوانه‌زنی بذر پایین بوده و رشد گیاهچه‌ها ضعیف است (Basahi, 2021).

از آنجایی که یکی از عوامل کاهش‌دهنده جوانه‌زنی، سبز شدن و رشد گیاهچه‌ها در اکوسیستم‌های زراعی امروزی وجود مقادیر بالای کادمیوم در خاک‌های زراعی است (Anwar et al., 2021)، بنابراین استفاده از تکنیک‌هایی که بتواند موجب کاهش اثرات زیان‌بار تنش فلزات سنگین در مراحل مختلف رشد گیاهان به‌ویژه در مرحله اولیه رشد باشد، از اهمیت بسیاری برخوردار است؛ زیرا بهبود قدرت بذر از طریق افزایش درصد جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های قوی و طبیعی موجب می‌شود تا گیاهان بتوانند تنش‌های محیطی را بهتر تحمل کنند. از روش‌های به‌کاررفته برای افزایش تحمل به تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین، پیش‌ تیمار بذر (Priming) بوده که یک فناوری با هزینه کم و مفید برای بهبود قدرت و کیفیت بذر است (Finch-Savage and Footitt, 2017). درواقع پیش‌ تیمار بذر از طریق افزایش فعالیت‌های متابولیکی قبل از جوانه‌زنی، موجب بهبود درصد و سرعت جوانه‌زنی و افزایش رشد گیاهچه‌ها می‌گردد (Ocvirk et al., 2021). کاهش اثرات منفی ناشی از تنش فلزات سنگین و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد

گیاهچه‌ها تحت این شرایط با استفاده از تکنیک پیش‌ تیمار بذر در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Kiremit et al., 2023; Mahmoudi et al., 2019; Tajti et al., 2019). در بین روش‌های مورد استفاده در پیش‌ تیمار بذر، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشدی (اسید سالیسیلیک) سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود. مطالعات متعدد در سال‌های اخیر نشان داده است که اسید سالیسیلیک که یک تنظیم‌کننده درون‌زای رشد گیاه است، به‌عنوان یک سیگنال در القای پاسخ ویژه گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش مهمی را ایفا می‌کند (Pruthvi Krishna et al., 2023). اسید سالیسیلیک از طریق افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش تنش اکسیداتیو می‌گردد (Kiremit et al., 2023). در شرایط وجود تنش فلزات سنگین، اسید سالیسیلیک همچنین موجب بهبود میزان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گندواش (Kumari et al., 2018)، گندم (Tajti et al., 2019)، برنج (Mostofa et al., 2019) می‌شود. اسید سالیسیلیک در مراحل مختلف رشدی گیاهان به‌صورت محلول‌پاشی روی بوته‌ها (Azadvari et al., 2020) و یا ترکیب با خاک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rahmanpour et al., 2021)؛ اما در مرحله بذری اسید سالیسیلیک را می‌توان به‌صورت اضافه کردن به بستر کاشت (Dris and Marashi, 2019) و به‌صورت تیمارهای پیش از کاشت بذر (Heidari et al., 2019) استفاده کرد. پیش‌ تیمار بذر با اسید سالیسیلیک باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها در گاوزبان اروپایی (Mahmoudi et al., 2019)، گندم (Tania et al., 2021)، خشکاش (*Papaver somniferum*) (Hakimi et al., 2021)، مرزه (*Satureja hortensis*) (Tarigholizadeh et al., 2021) و لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata*) (et al., 2021) و لوبیا چشم‌بلبلی (El-Taher et al., 2022) شده است.

با توجه به اینکه فلزهای سنگین یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در اکوسیستم‌های زراعی امروزی به‌شمار می‌آیند که منجر به کاهش جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و در نهایت کاهش تولید گیاهان می‌شود؛ بنابراین استفاده از تیمارهای مختلف نظیر اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش تیمار بذری یا محلول‌پاشی برای افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی توصیه می‌شود. با توجه به نقش اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات تنش فلزات سنگین از جمله کادمیوم روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها، این پژوهش

با هدف بررسی تأثیر روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های کینوا تحت تنش کادمیوم انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر، خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاهچه‌های کینوا تحت تنش کادمیوم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی در چهار تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۱ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک (پیش‌تیمار بذر و افزودن به بستر کاشت) (Mahmoudi et al., 2023) و غلظت‌های کادمیوم در پنج سطح (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. از کادمیوم کلراید ($\text{CdCl}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) (شرکت سازنده مرک آلمان) برای اعمال تیمارهای تنش کادمیوم استفاده شد. بذر کینوای مورد استفاده در این پژوهش وارپته تی تی کاکا دارای ساپونین کم (درصد خلوص بذر ۹۹ درصد و قوه نامیه ۹۵ درصد با وزن هزار دانه ۲/۶ گرم) بود که از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد.

قبل از اعمال تیمارها، بذرهای کینوا با هیپوکلرید سدیم دو درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند و روی کاغذ دستمالی پهن شدند تا خشک شوند (Amiryousefi et al., 2021). سپس بذرهای اعمال تیمار اسید سالیسیلیک کشت به‌صورت تصادفی به دو قسمت مساوی تقسیم شدند. یک قسمت از بذرهای قبل از انجام آزمون جوانه‌زنی با اسید سالیسیلیک پیش‌تیمار شدند. برای پیش‌تیمار نمودن بذرهای کینوا با اسید سالیسیلیک، ابتدا بذرهای ضدعفونی شده در داخل محلول تهیه‌شده با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به مدت ۱۲ ساعت نگهداری شده و پس از اتمام مدت‌زمان تعیین‌شده، بذر تا رسیدن به رطوبت اولیه در محیط آزمایشگاه خشکانده شدند.

برای انجام آزمون جوانه‌زنی بذر، چهار تکرار ۵۰ بذری به‌طور تصادفی از هر تیمار بذری (بذرهای پیش‌تیمار شده و بذرهای بدون پیش‌تیمار) جدا و به روش روی کاغذ (Top of paper) در پتری‌دیش‌ها (۹ سانتی‌متری) کشت شدند. در شرایط عدم پیش‌تیمار، مقدار ۳ میلی‌لیتر از محلول اسید سالیسیلیک با غلظت (۲/۵ میلی‌مولار) تهیه‌شده و به ظروف کشت اضافه شدند. برای بذرهای پیش‌تیمار شده نیز از آب

مقطر به مقدار ۳ میلی‌لیتر استفاده گردید. سپس نمونه‌ها به ژرمیناتوری با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای اعمال تنش کادمیوم به هر پتری‌دیش مقدار ۳ میلی‌لیتر محلول کادمیوم (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) اضافه گردید. جهت اعمال تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. سپس نمونه‌های تهیه‌شده به مدت ۱۰ روز در ژرمیناتوری با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بذور جوانه‌زده هر ۱۲ ساعت شمارش و یادداشت شدند. ظهور ریشه‌چه به‌اندازه ۲ میلی‌متر معیاری برای جوانه‌زنی بذرهای نظر گرفته شد (ISTA, 2017). در پایان آزمایش جوانه‌زنی (بعد از ۱۰ روز)، درصد جوانه‌زنی بذر محاسبه و طول و وزن خشک گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. طول گیاهچه‌های نرمال توسط خط‌کش اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن خشک گیاهچه، گیاهچه‌های نرمال از هر تیمار و تکرار به‌صورت جداگانه در پاکت‌های کاغذی ریخته شده و در آونی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا خشک شوند (ISTA, 2017).

همچنین صفات میانگین مدت جوانه‌زنی (Ellis and Roberts, 1981)، میانگین سرعت جوانه‌زنی (Salehzade et al., 2009)، متوسط جوانه‌زنی روزانه، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (Hunter et al., 1984)، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی (Yari et al., 2012) و شاخص قدرت بذر (ISTA, 2017) (جدول ۱) مورد ارزیابی قرار گرفت. روابط محاسباتی برای سرعت جوانه‌زنی، میانگین زمان جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی و شاخص قدرت بذر در جدول (۱) بیان شده است. جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها، نمونه‌هایی از گیاهچه‌های نرمال ۱۰ روزه به‌صورت تصادفی انتخاب و این نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری خصوصیات بیوشیمیایی و آنزیمی در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه عصاره آنزیمی از روش چانگ و کوآ (Chang and Koa, 1988) استفاده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ابی (Aebi, 1984) سنجش شد و آنزیم پراکسیداز با روش چانس و ماهلی (Chance and Maehly, 1955) بر پایه تشکیل تتراگایاکول از گایاکول در حضور پراکسید هیدروژن و آنزیم گایاکول اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز توسط روش کار و میشر (Kar and Mishra, 1955) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. روابط محاسباتی مورد مطالعه در آزمایش

Table 1. Calculation relationships studied in the experiment

سرعت جوانه‌زنی	$GR = \sum_{i=1}^n Si/Di$
Germination rate	
سرعت جوانه‌زنی روزانه	$DGS = \frac{I}{MDG}$
Daily Germination Speed	
میانگین مدت جوانه‌زنی	$MGT = \frac{\sum D_i \cdot n}{\sum n}$
Mean Germination Time	
متوسط جوانه‌زنی روزانه	$MDG = \frac{GP}{D}$
Mean Daily Germination	
زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی	$D50 = t_i + \left[\frac{\frac{n}{n_j} - ni}{n_j - ni} \right] \times (t_j - t_i)$
D50	
شاخص قدرت بذر	$VI = GP \times SW$
Vigor Index	

Si: تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر شمارش، Di: تعداد روز تا شمارش n، n: دفعات شمارش، D: تعداد روزهای سپری‌شده از شروع آزمایش، n: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز، GP: درصد جوانه‌زنی، SW: وزن خشک گیاهچه

Si: the number of germinated seeds per count, Di: the number of days until the nth count, n: counting times, D: the number of days since the beginning of the experiment, n: number of germinated seeds per day, GP: germination percentage, SW: Seedling dry weight

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل، پس از اطمینان از نرمال بودن آن‌ها، با استفاده از نرم‌افزار آماری (SAS) نسخه ۹،۴ انجام گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف ارزیابی شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، درصد جوانه‌زنی بذور تحت تأثیر اثر ساده تنش کادمیوم، روش‌های کاربرد و اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح یک درصد قرار گرفت (جدول ۲).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در هر دو روش کاربرد اسید سالیسیلیک، درصد جوانه‌زنی بذور کینوا با افزایش شدت تنش کادمیوم کاهش یافت به‌طوری‌که در هر دو روش کاربرد اسید سالیسیلیک، کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم کادمیوم مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار عدم کاربرد کادمیوم (شاهد) بود (شکل ۱a). غلظت‌های اعمال‌شده کادمیوم از طریق

جلوگیری از جذب و حرکت آب در محور جنینی باعث کاهش جوانه‌زنی و در نتیجه رشد گیاهچه می‌شود (Vijayaragavan et al., 2011). کاهش درصد جوانه‌زنی تحت تنش کادمیوم در بذور گاوزبان اروپایی (Sheikhzadeh et al., 2021) و پسته (Baroni et al., 2020) نیز گزارش شده بود که با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت.

با مقایسه دو روش کاربرد اسید سالیسیلیک می‌توان بیان نمود که در شرایط بدون تنش کادمیوم و شرایط وجود تنش کادمیوم در تمام سطوح تنش کادمیوم، در روش کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش‌تیمار بذر، درصد جوانه‌زنی بذرهای کینوا به‌طور معنی‌داری بیشتر از روش اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کاشت بود. در شرایط بدون تنش کادمیوم، بیشترین درصد جوانه‌زنی (۱۰۰ درصد) در روش پیش‌تیمار بذر حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از روش اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کاشت بود. در هر دو روش کاربرد اسید سالیسیلیک، بین درصد جوانه‌زنی بذرهای کینوا در تیمار شاهد (بدون تنش کادمیوم) و غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد که این امر ناشی از اثر مثبت اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم در سطوح پایین‌تر تنش برای جوانه‌زنی است (شکل ۱a). با توجه به نتایج حاصل می‌توان به این نتیجه رسید که کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش‌تیمار و اضافه کردن به بستر کاشت از طریق بهبود قدرت بذر در کینوا باعث افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها در شدت‌های کم تنش کادمیوم می‌شود (Fraszczak et al., 2024). افزایش شاخص‌های رشدی در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه دارویی لرگ (Pterocarya fraxinifolia) نیز گزارش شده است (Torun et al., 2024) که با یافته‌های این پژوهش مطابقت داشت.

میانگین مدت جوانه‌زنی

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها، میانگین مدت جوانه‌زنی تحت تأثیر اثر ساده تنش کادمیوم، روش کاربرد و اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت (جدول ۲).

در تمام سطوح تنش کادمیوم، در روش کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت پیش‌تیمار بذر میانگین مدت جوانه‌زنی بذرهای کینوا کمتر از روش اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کاشت بود. به‌طوری‌که در شرایط بدون تنش کادمیوم،

روش پیش تیمار نمودن سبب شده تا میانگین مدت جوانه‌زنی بذرهای کینوا در حدود ۷/۵۸ درصد نسبت به روش افزودن به بستر کاشت کاهش داشته باشد (شکل b۱). با اعمال تنش کادمیوم کاهش سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش کادمیوم را می‌توان با کاهش فعالیت‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی مانند کاهش حرکت آب و ذخایر به سمت محور جنین توصیف کرد (Vijayaragavan et al., 2011). انوار و همکاران (Anwar et al., 2021) گزارش کردند که سمیت کادمیوم در جوانه زدن گیاهچه‌های سورگوم فعالیت آنزیم هیدرولیز را مختل

می‌کند و تأثیر منفی بر انتقال محصولات هیدرولیز به سمت محور جنینی در حال رشد دارد و در نتیجه باعث افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی می‌شود. محمودی و همکاران (Mahmoudi et al., 2019) در مطالعه اثر کادمیوم بر مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گاوزبان اروپایی گزارش کردند که تنش کادمیوم موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص قدرت، طول و وزن خشک گیاهچه و کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود.

جدول ۲. تجزیه واریانس خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های کینوا تحت تأثیر تیمارهای کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک
Table 2. Variance analysis of germination and growth characteristics of quinoa seedlings under the influence of cadmium treatments and salicylic acid application methods

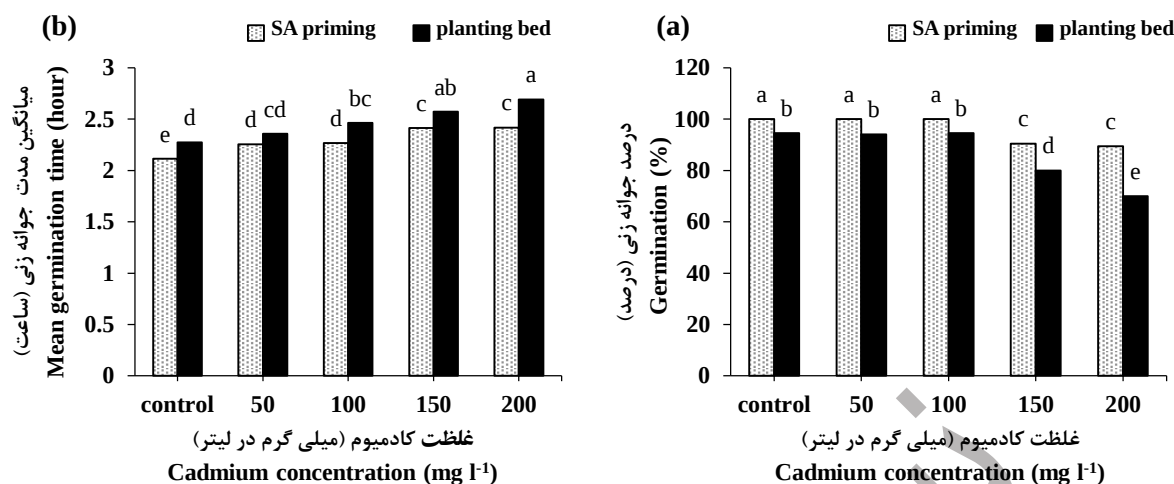
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	میانگین مدت جوانه‌زنی Mean germination time	میانگین سرعت جوانه‌زنی Mean germination rate	شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی Germination synchrony index	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی D ₅₀
Cadmium stress (CS)	تنش کادمیوم	4	268.9 **	0.13 **	0.004 **	16.69 **	0.14 **
Salicylic acid Application methods (SA)	روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک	1	883.6 **	0.047 *	0.002 *	3.87 **	0.65 **
CS × SA	تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد	4	368.1 **	0.108 **	0.003 **	20.49 **	0.10 **
Error	خطای آزمایش	30	3.27	0.008	0.0004	0.20	0.002
CV(%)	ضریب تغییرات		1.98	3.78	4.57	1.69	3.31

جدول ۲. ادامه
Table 2. Continued

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	متوسط جوانه‌زنی روزانه Mean daily germination	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص قدرت بذر Vigor index
Cadmium stress (CS)	تنش کادمیوم	4	1.37**	0.09 ^{ns}	0.001 *	169375**
Salicylic acid Application methods (SA)	روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک	1	4.52 **	0.64 **	0.011 **	51833.9 **
CS × SA	تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد	4	1.87 **	0.32 **	0.004 **	4447.1 **
Error	خطای آزمایش	30	0.017	0.029	2×10 ⁻⁴	705.8
CV(%)	ضریب تغییرات		2.01	8.87	8.39	6.11

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

ns, * and ** are non-significant and significant probability level of 5% and 1%, respectively



شکل ۱. درصد جوانه‌زنی (a) و میانگین مدت جوانه‌زنی (b) بذرهای کینوا تحت تأثیر تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Fig. 1. Germination percentage (a) and mean germination time (b) of quinoa seeds under the influence of cadmium stress and salicylic acid application methods. The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

سننژ اتیلن باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و در نتیجه کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی می‌شود (Sharafizadeh, 2017).

میانگین سرعت جوانه‌زنی

مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) میانگین سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت.

در شرایط بدون تنش کادمیوم، پیش‌تیمار کردن بذرهای کینوا با اسید سالیسیلیک سبب شد تا میانگین سرعت جوانه‌زنی بذور به‌طور معنی‌داری بیشتر از روش کاربرد اسید سالیسیلیک به‌صورت افزودن به بستر کاشت گردد به‌طوری‌که این میزان افزایش در حدود ۱۹/۲۵ بود (شکل ۲a). در شرایط تنش ملایم کادمیوم (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بین دو روش کاربرد اسید سالیسیلیک از نظر میانگین سرعت جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. با افزایش غلظت کادمیوم از ۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، در روش پیش‌تیمار نمودن بذرهای کینوا با اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این امر بیان‌گر این مطلب است که افزایش غلظت کادمیوم از یک سطحی به بالا می‌تواند سبب کاهش جوانه‌زنی بذور شود. در شدت‌های بالاتر تنش کادمیوم (۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، میانگین سرعت جوانه‌زنی

در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم، بین دو روش از نظر میانگین مدت جوانه‌زنی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت؛ اما با افزایش غلظت کادمیوم از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، بین دو روش پیش‌تیمار نمودن و افزودن اسید سالیسیلیک به بستر کاشت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به‌طوری‌که در این شرایط پیش‌تیمار نمودن بذرها سبب شد تا میانگین مدت جوانه‌زنی در حدود ۴/۴۴ تا ۱۱/۶ درصد نسبت به روش افزودن به بستر کاشت کاهش یابد (شکل ۲b). درواقع میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی رابطه عکس با سرعت جوانه‌زنی و کیفیت توده بذری دارد، به‌طوری‌که هر چه سرعت جوانه‌زنی افزایش یابد مدت‌زمان لازم برای جوانه‌زدن بذور نیز کاهش پیدا می‌کند و در نتیجه کیفیت نمونه بذری بالا خواهد بود. کاربرد اسید سالیسیلیک از طریق افزایش فعالیت متابولیکی بذور تیمار شده باعث می‌شود که بذور پیش‌تیمار شده از لحاظ مراحل جوانه‌زنی نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده پیشرفته‌تر باشند (Mahmoudi et al., 2019). پژوهشی که برای تعیین بهترین مدت‌زمان پیش‌تیمار و بررسی اثر آن بر روی صفات مختلف رشدی در هنگام جوانه‌زنی بذور تربچه انجام گرفت نشان داد که مجموعه این فاکتورها موجب رشد سریع‌تر و استقرار بهتر گیاهچه‌های تربچه (*Raphanus sativus*) در شرایط تنش می‌شود (Farzaneh et al., 2013). این امکان وجود دارد که اسید سالیسیلیک از طریق

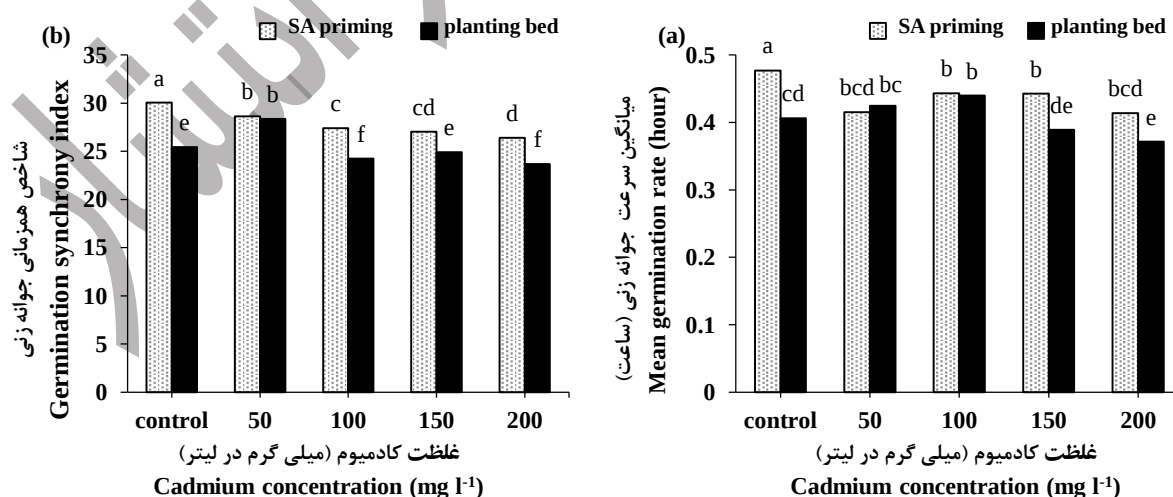
کینوا می‌شود به‌طوری‌که در روش پیش‌ تیمار با اسید سالیسیلیک آنزیم‌های هیدرولیتی نسبت به روش کاربرد اسید سالیسیلیک در بستر کاشت زودتر فعالیت خودشان را آغاز می‌کنند و به همین دلیل سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی در این بذرها می‌شود (Mahmoudi et al., 2019).

شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی

مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) میانگین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم $\times$ روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت.

در شرایط بدون تنش کادمیوم و غلظت‌های ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم، شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی بذرها کینوای پیش‌ تیمار شده با اسید سالیسیلیک به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی بذرها کینوایی بود که اسید سالیسیلیک به بستر کاشت اضافه شده بود. در شرایط تنش ملایم کادمیوم (غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر) بین روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک از نظر آماری اختلافی وجود نداشت (شکل ۲b).

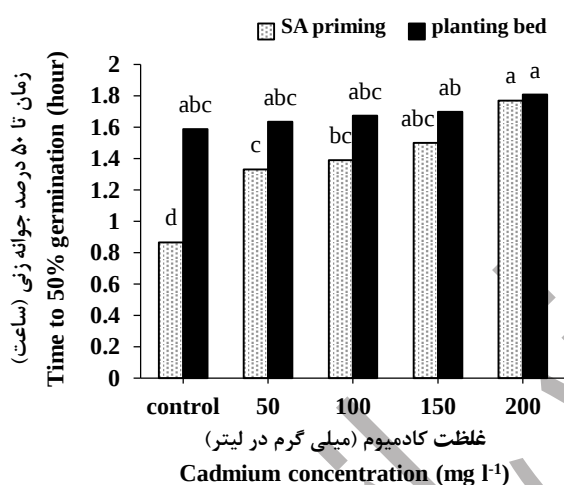
بذرها کینوای پیش‌ تیمار شده به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین سرعت جوانه‌زنی بذرهایی بوده که اسید سالیسیلیک به بستر کاشت اضافه شده بود. به‌طوری‌که میانگین سرعت جوانه‌زنی در غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تنش کادمیوم، در روش پیش‌ تیمار نمودن به ترتیب در حدود ۱۵/۷۸ و ۱۰/۸۱ درصد بیشتر از روش اضافه کردن به بستر کشت بود (شکل ۲a). افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه‌کننده در بذور پیش‌ تیمار شده با اسید سالیسیلیک در مقایسه با روش کاربرد اسید سالیسیلیک در بستر کاشت باعث افزایش میانگین سرعت جوانه‌زنی بذرها کینوا می‌شود. به‌طوری‌که در روش پیش‌ تیمار با اسید سالیسیلیک آنزیم‌های هیدرولیتی نسبت به روش کاربرد اسید سالیسیلیک در بستر کاشت زودتر فعالیت خودشان را آغاز می‌کنند و به همین دلیل سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی در این بذرها کینوا می‌شود (Mahmoudi et al., 2019). تیمارهای آلی همانند اسید سالیسیلیک می‌توانند با افزایش و تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و هیدرولیز کننده نشاسته در طی جوانه‌زنی موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور در شرایط متغیر محیطی شود (Coolbear, 2020). افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه‌کننده در بذور پیش‌ تیمار شده با اسید سالیسیلیک در مقایسه با روش کاربرد اسید سالیسیلیک در بستر کاشت باعث افزایش میانگین سرعت جوانه‌زنی بذرها کینوا می‌شود.



شکل ۲. سرعت جوانه‌زنی (a) و شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (b) بذرها کینوا تحت تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 2. Germination rate (a) and germination synchronicity index (b) of quinoa seeds under cadmium stress and salicylic acid application methods. The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

با توجه به نتایج این پژوهش، چنین استنباط می‌شود که پیش‌تیمار نمودن بذور با اسید سالیسیلیک در مقایسه با روش کاربرد اسید سالیسیلیک در بستر کاشت، از طریق کوتاه شدن متوسط زمان جوانه‌زنی (شکل ۱a) و افزایش میانگین سرعت جوانه‌زنی (شکل ۲a) منجر به کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی گردید. در حقیقت دلیل بهبود زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی با پیش‌تیمار نمودن بذرها این است که بذرها قبل از قرار گرفتن در بستر خود مراحل اولیه جوانه‌زنی را سپری می‌کنند (Ghaderi and Aliloo, 2023; Mahmoudi et al., 2023).



شکل ۳. زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذرها کینوا تحت تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 3. Time to 50% germination of quinoa seeds under cadmium stress and methods of salicylic acid application. The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

متوسط جوانه‌زنی روزانه

متوسط جوانه‌زنی روزانه تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم، روش کاربرد و اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت (جدول ۲). کمترین متوسط جوانه‌زنی روزانه در تنش کادمیوم ۲۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۴).

بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه در شرایط عدم تنش کادمیوم و تنش ۵۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد که در شرایط عدم تنش کادمیوم اختلاف معنی‌داری از نظر روش کاربرد اسید سالیسیلیک وجود نداشت (شکل ۴a). در تمام

بین تیمارهای مورد مطالعه، کمترین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در تیمار اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کشت در شرایط وجود غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با تنش کادمیوم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نداشت. بیشترین شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش کادمیوم در روش پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک مشاهده شد که حدود ۲۲/۹۱ درصد بیشتر از روش اضافه کردن به بستر کشت بود (شکل ۲b). به نظر می‌رسد پیش‌تیمار بذرها کینوا با اسید سالیسیلیک با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتی، فرایند جوانه‌زنی را از طریق افزایش میانگین سرعت جوانه‌زنی (شکل ۲b) و یکنواختی در جوانه‌زنی، بهبود بخشیده و باعث بهبود شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی (به واسطه تجزیه سریع‌تر مواد ذخیره‌ای) گردید. پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند گلوکاتیون و آسکوربات، باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در مرحله‌ی جوانه‌زنی شدند که در نتیجه افزایش شاخص هم‌زمانی جوانه‌زنی در بذور را در پی داشت (Sharafizadeh, 2017).

زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی

جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. تنش کادمیوم، زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی را افزایش داد به‌طوری‌که کمترین زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی در شرایط عدم تنش کادمیوم، در روش پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک مشاهده شد که ۴۵/۵۶ درصد کمتر از روش اضافه کردن به بستر کشت بود، مشاهده شد (شکل ۳). قادری و علیلو (Ghaderi and Aliloo, 2023) کاهش زمان لازم برای رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی در تیمار با اسید سالیسیلیک در گیاه کلزا گزارش کردند. محققین اثرات مثبت پیش‌تیمار را بر جوانه‌زنی گیاهان مختلف مورد بررسی قراردادند که این روش‌های تیماری در افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی مؤثر هستند (Murungu et al., 2003). جوانه‌زنی از مهم‌ترین و حساس‌ترین مراحل رشدی محصولات زراعی است یکنواختی و درصد سبز شدن بذر می‌تواند تأثیر زیادی بر عملکرد و کیفیت محصول داشته باشد (Najafi et al., 2015).

سطوح تنش کادمیوم (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) پیش تیمار اسید سالیسیلیک ۲۴/۳۹ تا ۲۷/۱۱ درصد متوسط جوانه زنی روزانه را نسبت به تیمار بستر کشت افزایش داد (شکل ۴a). پیش تیمار سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیکی زیادی در بذر و همچنین گیاه حاصل از آن می گردد، به طوری که نتیجه این عمل در جوانه زنی، استقرار اولیه گیاه، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول قابل مشاهده است. مرحله جوانه زنی بذر جهت تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح اهمیت زیادی دارد و تراکم کافی بوته در واحد سطح هنگامی حاصل می شود که بذرهای کشت شده به طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند (Najafi et al., 2015). گزارش های رحمان و همکاران (Rehman et al., 2019) حاکی از آن است که خیساندن بذر کدو (Cucurbita) نیز باعث افزایش درصد جوانه زنی بذر، کاهش متوسط مدت جوانه زنی شد و همچنین پیری بذر را کاهش داد. به نظر می رسد پیش تیمار نمودن بذر با اسید سالیسیلیک منجر به افزایش سرعت جوانه زنی (شکل ۲a) شده که همین امر منجر به افزایش متوسط جوانه زنی روزانه می شود.

شاخص قدرت بذر

همچنین شاخص قدرت بذر تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش های کاربرد و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم × روش های کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر روش های کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص قدرت بذر نشان داد که در تمام سطوح تنش کادمیوم پیش تیمار اسید سالیسیلیک شاخص قدرت بذر را ۲۸/۹۰ تا ۶۶/۹۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۴b). تنش کادمیوم موجب کاهش شاخص قدرت بذر شد به طوری که کمترین شاخص قدرت بذر در شرایط تنش ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم به دست آمد که اختلاف معنی داری با تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم نداشت اما در همین شرایط کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش تیمار نسبت به روش اضافه کردن به بستر کشت ۸۸/۰۲ درصد شاخص قدرت بذر را نسبت به شاهد افزایش داد. (شکل ۴b). سانتوس و همکاران (Santos et al., 2021) در بررسی خود گزارش کردند که کادمیوم، درصد جوانه زنی و میانگین زمان جوانه زنی را در گیاه پنبه کاهش داد که با نتایج نایم و همکاران (Naeem et al., 2021) روی گیاه کینوا مطابقت داشت. بسیاری از محققان

گزارش کرده اند که تحت تنش کادمیوم کاهش قابل توجهی در رشد گیاهان وجود دارد (Rehman et al., 2019). به طور مشابه، امجد و همکاران (Amjad et al., 2022) دریافتند که رشد گیاه کینوا با افزایش سطح کادمیوم خاک از ۳۰ به ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم به ترتیب کاهش می یابد. این کاهش ناشی از کادمیوم در رشد کینوا به ناهنجاری های متعددی مانند جذب محدود مواد مغذی، سمیت یون کادمیوم، محدودیت روابط آبی گیاهی، فرآیند فتوسنتزی و فعالیت های آنزیمی نسبت داده می شود (Abdal et al., 2021; Rehman et al., 2019).

اما در همین شرایط کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش تیمار نسبت به روش اضافه کردن به بستر کشت ۸۸/۰۲ درصد شاخص قدرت بذر را افزایش داد. (شکل ۴b). مقایسه میانگین اثر روش های کاربرد اسید سالیسیلیک بر شاخص قدرت بذر نشان داد که در تمام سطوح تنش کادمیوم پیش تیمار اسید سالیسیلیک شاخص قدرت بذر را ۲۸/۹۰ تا ۶۶/۹۲ درصد افزایش داد (شکل ۴b). اسید سالیسیلیک از طریق فعال کردن آنزیم های آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز متابولیک لازم برای جوانه زنی و سنتز RNA ریبوزومی و DNA میتوکندری، سبب افزایش جوانه زنی و در نتیجه افزایش ویگور بذر می شود (Sharifzadeh, 2017).

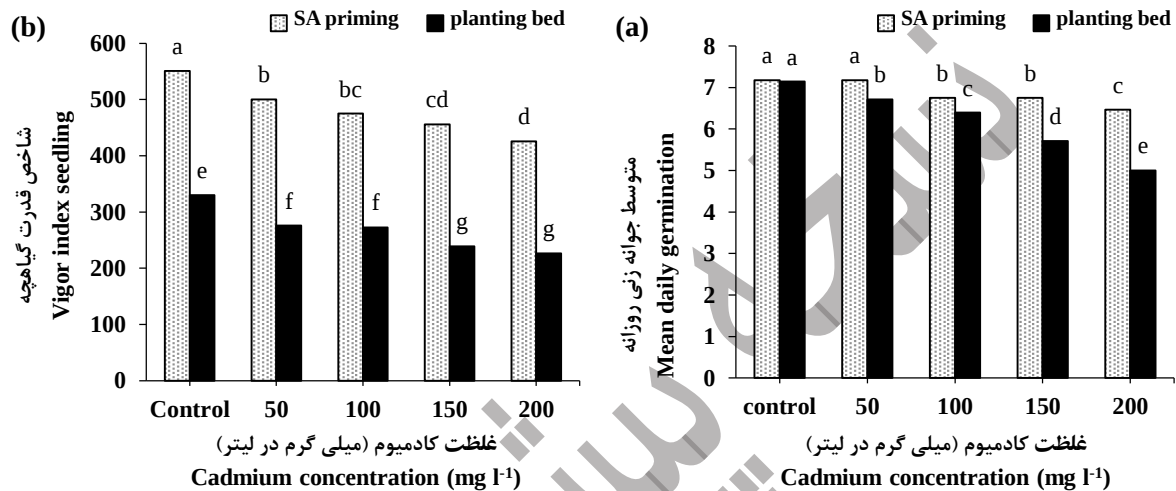
طول گیاهچه

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس طول گیاهچه تحت تأثیر اثرات ساده روش کاربرد و اثر متقابل تنش کادمیوم × روش های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت اما اثر ساده تنش کادمیوم بر این شاخص معنی دار نشد (جدول ۲).

تنش کادمیوم (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) در روش پیش تیمار و بستر کشت به ترتیب به طور معنی داری باعث کاهش طول گیاهچه در حدود ۲۴/۵۹ و ۳۱/۱۳ درصد در تیمار شاهد شد. بیشترین طول گیاهچه در روش پیش تیمار اسید سالیسیلیک در تیمار شاهد مشاهده شد به طوری که کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش تیمار طول گیاهچه را ۶۶/۷۶ درصد نسبت به اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کشت افزایش داد (شکل ۵a). رهویی و همکاران (Rahoui et al., 2010) گزارش کردند که در معرض تنش کادمیوم، جوانه زنی بذر نخود و باقلا به دلیل آسیب غشاء و نشت الکترولیت ها از سلول با تأخیر صورت می گیرد. این موضوع نشان می دهد که حساسیت پارامترهای رشد به تنش کادمیوم با گونه ها،

ژنوتیپها و ارقام متفاوت است. جوادحسن و همکاران (Jawad Hassan et al., 2020) در سورگوم و زاو و همکاران (Zhao et al., 2021) در رازیانه و سینگال و همکاران (Singhal et al., 2022) در نخود، به این نتیجه رسیدند که در همه سطوح تنش کادمیوم، کاهش جوانه‌زنی و پارامترهای رشد مانند طول ریشه‌چه و ساقه‌چه رخ می‌دهد؛ بنابراین این

نتیجه نشان می‌دهد که طول گیاهچه درجاتی از تحمل به تیمارهای کادمیوم را نشان می‌دهد. اسید سالیسیلیک احتمالاً از طریق افزایش تقسیم سلولی در مریستم انتهایی (شکل ۱a) باعث افزایش طول گیاهچه شد که با نتایج شرفی‌زاده (Sharafizadeh, 2017) در گیاه جو مطابقت دارد.



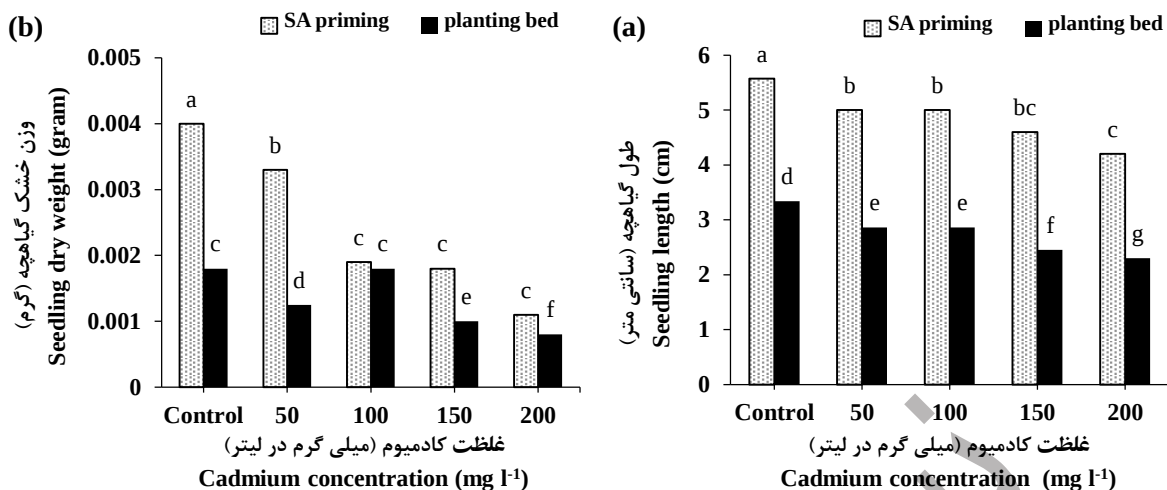
شکل ۴. متوسط جوانه‌زنی روزانه (a) و شاخص قدرت (b) بذرهای کینوا تحت تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 4. Mean daily germination (a) and vigor index (b) of quinoa seeds under cadmium stress and salicylic acid application methods. The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

وزن خشک گیاهچه

وزن خشک گیاهچه بذر تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). در شرایط عدم تنش کادمیوم کاربرد اسید سالیسیلیک به صورت پیش تیمار وزن خشک گیاهچه را ۲۲/۲۲ درصد نسبت به تیمار بستر کشت افزایش داد (شکل ۵b). از طرفی اعمال پیش تیمار اسید سالیسیلیک وزن خشک گیاهچه را افزایش داد به طوری که کمترین وزن خشک گیاهچه در تنش ۲۰۰ میلی گرم در لیتر در روش بستر کشت مشاهده شد که حدود ۱۷/۵ درصد کمتر از روش پیش تیمار اسید سالیسیلیک بود (شکل ۵b). قرار گرفتن در معرض تنش کادمیوم سرعت جوانه‌زنی بذر و صفات رشد اولیه

گیاهچه از جمله وزن خشک گیاه را نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد که وزن خشک گیاهچه در بالاترین سطوح کادمیوم (۲۰۰ میلی گرم در لیتر) ۷۲/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (شکل ۵b). رهویی و همکاران (Rahoui et al., 2010) تأخیر در جوانه‌زنی را زمانی که بذر نخود و باقلا به دلیل آسیب غشاء و نشت املاح آلوده به کادمیوم شدند گزارش کردند. بیشترین میزان وزن خشک گیاهچه در روش پیش تیمار اسید سالیسیلیک مشاهده شد که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. اسید سالیسیلیک از طریق افزایش هورمون‌های تنظیم کننده رشد از جمله اکسین و سیٹوکینین باعث افزایش وزن خشک گیاهچه می‌شود (Ahmadpoor Dehkordi et al., 2018) که با نتایج کبیری و نقی‌زاده (Kabiri and Naghizadeh, 2014) در گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) مطابقت دارد.



شکل ۵. میانگین طول گیاهچه (a) و وزن خشک گیاهچه (b) بذرهای کینوا تحت تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک. وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 5. Average seedling length (a) and seedling dry weight (b) of quinoa seeds under cadmium stress and salicylic acid application methods. The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

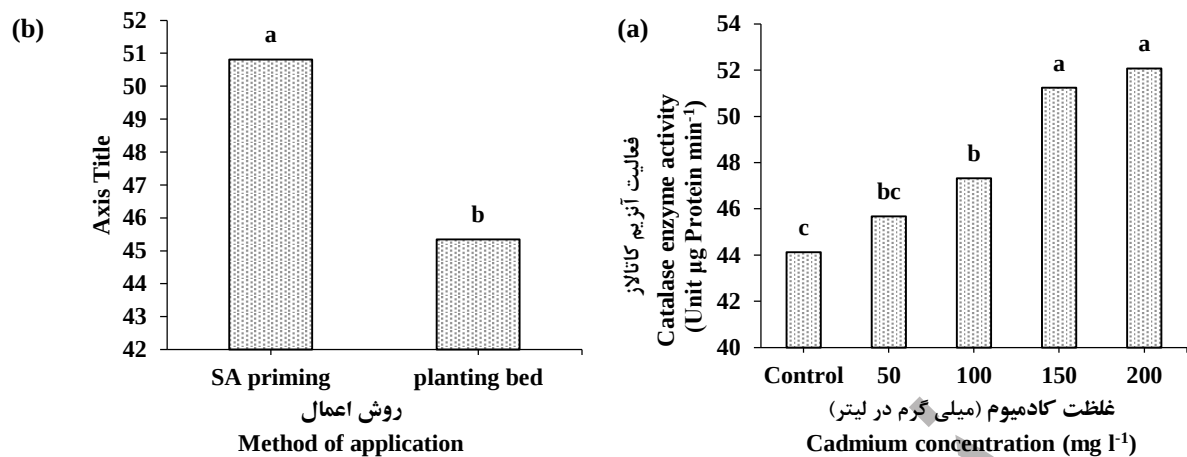
فعالیت آنزیم کاتالاز

فعال‌سازی آنزیم کاتالاز در تنش زیر فلزات گیاهان کینوا به‌خوبی ثبت شده است (Iftikhar et al., 2021; Abdal et al., 2021). افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز با نتایج پای و شارما (Pai and Sharma et al., 2023) در برنج مطابقت داشت. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار بستر کشت مشاهده شد که حدود ۱۲/۰۳ درصد کمتر از روش پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک بود (شکل ۶b).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش کادمیوم و همچنین اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت. (جدول ۳). مطابق شکل ۷، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در شرایط تنش شدید کادمیوم (۲۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم) و تیمار شاهد به دست آمد. همچنین در سطح ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تنش کادمیوم، روش پیش‌تیمار دارای بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز بود (شکل ۷). به عبارتی در شرایط تنش ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم، روش پیش‌تیمار نمودن بذر سبب شد تا فعالیت آنزیم پراکسیداز را ۱/۲۷ تا ۱۴/۷۰ درصد نسبت به تیمار شاهد و ۶/۵۱ تا ۹/۶۹ درصد نسبت به روش اضافه کردن به بستر کشت افزایش یابد (شکل ۷). همچنین تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری با تنش کادمیوم

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳)، فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر اثرات ساده تنش کادمیوم و روش کاربرد قرار گرفت اما اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر این صفت معنی‌دار نشد. با افزایش تنش کادمیوم فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم نداشت و ۱۸/۰۱ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود (شکل ۶a). کادمیوم حتی در غلظت‌های بسیار کم بسیار سمی است، بنابراین جذب کادمیوم توسط گیاهان بر رشد و فعالیت‌های متابولیکی طبیعی آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Zhang et al., 2020). یکی از اثرات غیرمستقیم گیاهان در مواجهه با تنش کادمیوم، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است (Bamagoos et al., 2022). رادیکال‌های ROS اصلی که برای گیاهان مضر هستند عبارت‌اند از سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$)، اکسیژن منفرد (O_2)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و هیدروکسیل (Shahid et al., 2019). این ROSها اثرات نامطلوبی بر روی ماکرو مولکول‌ها مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک دارند. تولید بیش‌از حد ROS، به‌عنوان مثال، H_2O_2 ، باعث پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش پایداری غشای سلولی خواهد شد. مشابه این یافته‌ها، افزایش



شکل ۶. فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر تنش کادمیوم (a) و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک (b). وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Fig. 6. Activity of catalase enzyme under the influence of cadmium (a) and stress salicylic acid application methods (b) The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

جدول ۳. تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاهچه‌های کینوا تحت تأثیر کادمیوم و روش کاربرد اسید سالیسیلیک

Table 3. Variance analysis of antioxidant enzyme activity of quinoa seedlings under the influence of cadmium and salicylic acid application method

S.O.V	درجه آزادی منابع تغییر	df	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase enzyme activity	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme activity	فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز Polyphenoloxidase enzyme activity
	تنش کادمیوم	4	95.87 **	36.17 **	0.24 *
Cadmium stress (CS)					
	روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک	1	298.33 **	0.11 ns	50.14 **
Salicylic acid Application methods(SA)					
	تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد	4	2.21 ns	16.56 *	0.01 ns
CS × SA					
	خطای آزمایش	30	3.90	4.47	0.06
Error					
CV(%)	ضریب تغییرات		4.10	4.96	7.33

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد می‌باشند
ns, * and ** are non-significant and significant probability level of 5% and 1%, respectively

محققان مشاهده کرده‌اند که تنش کادمیوم باعث استرس اکسیداتیو در گیاهانی غیر از کینوا نیز می‌شود (Shahid et al., 2019; Rehman et al., 2019). فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ممکن است به دلیل توانایی آن در تبدیل رادیکال‌های سوپر اکسید به H_2O_2 باشد (Rehman et al., 2019). بنابراین می‌توان استنباط کرد که هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نقش مهمی در سم‌زدایی H_2O_2 و آسیب سلولی حاصل در گیاهان تحت تنش کادمیوم دارند (Abdal et al., 2022).

(۵۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم) نداشت. امجد و همکاران (Amjad et al., 2022) دریافتند که سطوح کادمیوم خاک بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم باعث تنش اکسیداتیو شدید در کینوا شد. همچنین افزایش سطوح Cd از ۵۰ به ۲۰۰ میکرومولار باعث تنش اکسیداتیو شدید شد (Abdal et al., 2021). در میان ROSهای مختلف، H_2O_2 به‌عنوان مهم‌ترین ROS در نظر گرفته می‌شود، زیرا تمایل به تبدیل شدن به ROS سمی‌تر را دارد (Shahid et al., 2019). بسیاری از

آنزیم پلی فنل اکسیداز

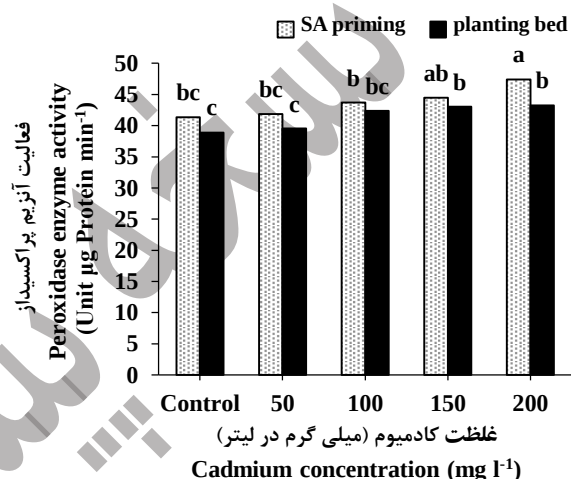
تأثیر تنش کادمیوم و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز معنی دار بود؛ اما اثر متقابل تنش کادمیوم × روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک بر این صفت معنی دار نشد (جدول ۳).

با افزایش تنش کادمیوم فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش یافت. بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم پلی-فنل اکسیداز به ترتیب در تیمار ۲۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم و تیمار شاهد مشاهده شد به طوری که تنش ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کادمیوم فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را در حدود ۱۹/۹۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (شکل ۸a). سمیت H_2O_2 زمانی که به اکسیژن مولکولی و آب تبدیل می شود کاهش می یابد. این مرحله مهم در سم زدایی از H_2O_2 از طریق بیان بیش از حد کاتالاز و پراکسیداز به دست می آید (Amjad et al., 2022; Shahid et al., 2019). تنش اکسیداتیو ناشی از کادمیوم و آسیب غشا در بسیاری از گیاهان مشاهده شده است H_2O_2 (Kaya, 2021). بیشتر توسط پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) به اکسیژن و آب تبدیل می شود (Guedes et al., 2021). نتایج مطالعه الهربی و همکاران (Alharby et al., 2022) نشان می دهد که فعالیت های CAT، APX و POD روند افزایشی ناشی از افزایش سمیت کادمیوم را نشان می دهد. روش پیش تیمار میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را در حدود ۶۷/۱۸ درصد نسبت به تیمار بستر کشت افزایش داد (شکل ۸b). پیش-تیمار نمودن بذور کینوا با اسید سالیسیلیک موجب شد تا فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش یابد که با نتایج کان و همکاران (Kwon et al., 2023) در گیاه مریم گلی مطابقت داشت. پای و شارما (Pai and Sharma et al., 2023) در برنج افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تنش گزارش کردند. تیمار اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعال شدن آنزیم های آنتی اکسیدانی می شود (Brahimova et al., 2021).

نتیجه گیری نهایی

درمجموع نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش شدت تنش کادمیوم، صفات درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، میانگین درصد و سرعت جوانه زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، شاخص هم زمانی جوانه زنی، متوسط جوانه زنی روزانه و شاخص قدرت بذور، کاهش یافت درحالی که صفات میانگین

مطالعه حاضر نشان داد که تحت تنش کادمیوم فعالیت هر دو این آنزیم افزایش یافته است. افزایش های مشابهی در فعالیت این آنزیم ها نیز تحت تنش کادمیوم هم در آزمایش های خاک و هم در کشت هیدروپونیک در کینوا (Abdal et al., 2021; Amjad et al., 2022; Iftikhar et al., 2021) و همچنین گیاهان دیگر مشاهده شد (Shahid et al., 2019; Rehman et al., 2019).



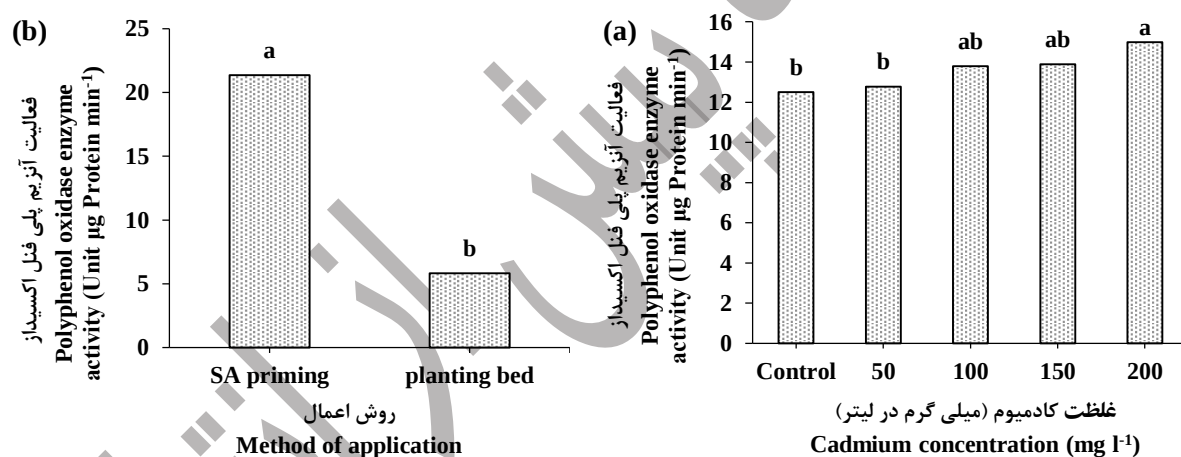
شکل ۷. فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه های کینوا تحت تنش کادمیوم و روش های کاربرد اسید سالیسیلیک وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 7. Activity of peroxidase enzyme activity of quinoa seedlings under cadmium stress and salicylic acid application methods The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level

افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار با اسید سالیسیلیک توسط پای و شارما (Pai and Sharma et al., 2023) در برنج گزارش شده است. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار با اسید سالیسیلیک در ذرت گزارش شده است (Pruthvi Krishna et al., 2023). افزایش فعالیت بسیاری از آنزیم های آنتی اکسیدانی، SOD، APX و CAT توسط اسید سالیسیلیک نیز نشان داده شده است (Jini and Joseph, 2017). افزایش سطح بیان آنزیم های آنتی اکسیدان در تیمارهای بذری توسط اسید سالیسیلیک گزارش شده است (Tayyab et al., 2020).

سبب می‌شود تا در شرایط بدون تنش و تنش کادمیوم بذرهای پیش‌تیمار شده نسبت به بذرهای شاهد سریع‌تر جوانه‌زده و با کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی و زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی از طریق افزایش سرعت جذب آب، ترمیم و آماده‌سازی ساختار و آنزیم‌های بذر و تضعیف پوسته بذر از آسیب‌های کادمیوم کاسته و فرآیند جوانه‌زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت کند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طی جوانه‌زنی باعث بهبود شرایط جوانه‌زنی و رشد اولیه می‌شود. به عبارتی انجام پیش‌تیمار بذر با اسید سالیسیلیک در مقایسه با اضافه کردن به بستر کشت در سطوح مختلف تنش کادمیوم از راه افزایش توان بذر و گیاهچه و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از تأثیر منفی تنش کادمیوم می‌کاهد و موجب بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌شود.

مدت جوانه‌زنی، زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش یافت. تنش کادمیوم باعث عدم تعادل یونی می‌شود که باعث تحریک تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شود که منجر به اختلال در غشای سلولی، تنظیم اسمزی و تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود. با توجه به تأثیر منفی این تنش بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های به‌دست‌آمده، در بین روش‌های کاربرد (پیش‌تیمار و بستر کشت اسید سالیسیلیک)، پیش‌تیمار نمودن بذرهای تأثیر بیشتری در بهبود جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌های و افزایش شاخص قدرت بذر کینوا و همچنین افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به روش اضافه کردن اسید سالیسیلیک به بستر کاشت داشته است. پیش‌تیمار نمودن بذرهای کینوا با اسید سالیسیلیک از طریق کوتاه کردن مدت‌زمان لازم جوانه‌زنی



شکل ۸. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تأثیر تنش کادمیوم (a) و روش‌های کاربرد اسید سالیسیلیک (b). وجود حداقل یک حرف آماری مشترک، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است.

Fig. 8. Activity of polyphenol oxidase enzyme under the influence of cadmium (a) and stress salicylic acid application methods (b). The presence of at least one common statistical letter indicates no significant difference based on Duncan's test at the 5% probability level.

منابع

- Abdal, N., Abbas, G., Asad, S.A., Ghfar, A.A., Shah, G.M., Rizwan, M., Ali, S., Shahbaz, M., 2021. Salinity mitigates cadmi-um-induced phytotoxicity in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by limiting the Cd uptake and improved responses to ox-idative stress: Implications for phytoremediation. *Environmental Geochemistry and Health*. 45, 171-185. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-01082-y>
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105, 121-126.
- [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Ahmadpoor Dehkordi, E., Danesh Shahraki, A., Khosravi Lamjiri, P., 2018. Effect of seed priming with salicylic acid on seed germination and seedling growth of *Hibiscus sabdariffa* under drought stress. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, 5, 1-11. <https://doi.org/10.22124/jms.2018.2941>

- Alharby, H.F., Al-Zahrani, H.S., Abbas, G., 2022. Potassium and silicon synergistically increase cadmium and lead tolerance and phytostabilization by quinoa through modulation of physiological and biochemical attributes. *Toxics*. 10, 169. <https://doi.org/10.3390/toxics10040169>
- Amiryousefi, M., Tadayon, M. R., Ebrahimi, R., 2021. Effect of nitrogenous and phosphorus biofertilizers on seed germination and some biochemical characteristics of two quinoa cultivars (*Chenopodium quinoa* Willd) under drought stress. *Iranian Journal of Plant Biology*. 13, 107-126. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2021.125105.1227>
- Amjad, M., Iqbal, M.M., Abbas, G., Farooq, A.B.U., Naeem, M.A., Imran, M., Murtaza, B., Nadeem, M., Jacobsen, S.E., 2022. Assessment of cadmium and lead tolerance potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) and its implications for phyto-remediation and human health. *Environmental Geochemistry and Health*. 44, 1487–1500. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00826-0>
- Anwar, S., Shafiq, F., Nisa Uzma, Z., Muhammad Yasin, U., Ali Ashraf, N., 2021. Effect of cadmium stress on seed germination, plant growth and hydrolyzing enzymes activities in mungbean seedlings. *Journal of Seed Science*. 43, 2317-1545. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43256006>
- Azadvari, H., Masoumeh, N., Gholizadeh, A., Nakhzari Moghaddam, A., 2020. Evaluation of salicylic acid application on the physiological responses of black cumin (*Nigella sativa* L.) under different irrigation conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*. 13, 1904-1626. <https://doi.org/10.22077/escs.2020.2398.1626>
- Bamagoos, A.A., Alharby, H.F., Abbas, G., 2022. Differential uptake and translocation of cadmium and lead by quinoa: a multivariate comparison of physiological and oxidative stress responses. *Toxics*. 10, 68. <https://doi.org/10.3390/toxics10020068>
- Baroni, G. Pereira, M. Corrêa, F. de Castro, E. José Pereira, F., 2020. Cadmium tolerance during seed germination and seedling growth of *Schinus molle* (Anacardiaceae). *floresta. ambiente*. 27, e20170502. <https://doi.org/10.1590/2179-8087.050217>
- Basahi, M., 2021. Humic acid improved germination rate, seedling growth and antioxidant system of pea (*Pisum sativum* L. var. Alicia) grown in water polluted with CdCl₂. *AIMS Environmental Science*. 8, 358-370. <https://doi.org/10.3934/environsci.2021023>
- Brahimova, U. Kumari, P. Yadav, S. Rastogi, A. Antala, M. Suleymanova, Z. Zivcak, M. Tahjib-Ul-Arif, M. Hussain, S. Abdelhamid, M., 2021. Progress in understanding salt stress response in plants using biotechnological tools. *Journal of Biotechnology*. 329, 180–191. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.02.007>
- Chance, B. Maely, A.C., 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775. <https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>
- Chang, C.J., Kao, C.H., 1998. H₂O₂ metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*. 25, 11-15. <https://doi.org/10.1023/A:1005903403926>
- Coolbear, P., 2020. Mechanisms of Seed Deterioration. *Seed Quality*. CRC Press
- Drish, H., Marashi, S. K., 2019. Study the effect of different methods of applying salicylic acid on quantitative, qualitative and biochemical parameters of wheat (*Triticum aestivum* L.) in drained and not drained lands. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12, 561-571. <https://doi.org/10.22077/escs.2018.1371.1291>
- Ellis, R.H. Roberts, E.H., 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*. 9, 373-409. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.1.s.01>
- El-Taher, A.M. Abd, El-Raouf, H.S. Osman, N.A. Azoz, S.N. Omar, M.A. Elkelish, A. Abd El-Hady, M.A.M., 2022. Effect of salt stress and foliar application of salicylic acid on morphological, biochemical, anatomical, and productivity characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) plants. *The Plant Journal*. 11, 115. <https://doi.org/10.3390/plants11010115>
- Farzaneh, M. Ghanbari, M. Eftekharian Jahromi, A.R., 2013. Effect of hydro-priming on seed germination and proline content of radish (*Raphanus Sativus* L.) under salt stress. *Journal of Plant Environmental Physiology*. 8, 65-74. <https://doi.org/10.22034/jchr.2019.665823>
- Finch-Savage, W.E. Footitt, S., 2017. Seed dormancy cycling and the regulation of

- dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*. 68, 843-856. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw477>
- Fraszczak, B., Matysiak, R., Smiglak, M., Kukawka, R., Szychalski, M., Kleiber, T., 2024. Application of salicylic acid derivative in modifying the iron nutritional value of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Plants*. 13, 180. <https://doi.org/10.3390/plants13020180>
- Ghaderi, M., Aliloo, A.A., 2023. Improving activity of antioxidant enzymes and vigor in rapeseed by salicylic acid and gum arabic seed priming. *Plant Process and Function*. 12, 123-138. <https://doi.org/20.1001.1.23222727.1402.12.5.4.8.8>
- Guedes, F.R.C.M., Maia, C.F., da Silva, B.R.S., Batista, B.L., Alyemeni, M.N., Ahmad, P., da Silva, Lobato, A.K., 2021. Exogenous 24-Epibrassinolide stimulates root protection, and leaf antioxidant enzymes in lead stressed rice plants: Central roles to minimize Pb content and oxidative stress. *Environmental Pollution*. 1,280:116992. <https://doi.org/10.1016/envpol.2021.116992>
- Hakimi, Y. Fatahi, R. Naghavi, M.R. Zamani, Z., 2021. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on stress indices in *Papaver bracteatum* Lindl. The 2nd International Electronic Conference on Plant Sciences—10th Anniversary of Journal Plants. 1–15 December, Online. <https://doi.org/10.3390/IECPS2021-12039>
- Heidari, H., Alizadeh, Y., fazeli, A., 2019. Effects of seed priming and foliar application of salicylic acid on some of physiological characteristic and yield on mung bean (*Vigna radiata* L.) under drought stress condition. *Journal of Plant Production Research*, 26, 127-141. <http://doi.org/10.22069/jopp.2019.14863.2327>
- Hunter, E.A., C.A. Glasbey, R.E.L. Naylor. 1984. The analysis of data from germination tests. *The Journal of Agricultural Science*. 102, 207-213. <http://doi.org/10.1017/S0021859600041642>
- Iftikhar, A., Abbas, G., Saqib, M., Shabbir, A., Amjad, M., Shahid, M., Ahmad, I., Iqbal, S., Qaisrani, S.A., 2021. Salinity modulates lead (Pb) tolerance and phytoremediation potential of quinoa: A multivariate comparison of physiological and biochemical attributes. *Environmental Geochemistry and Health*. 44, 257–272. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00937-8>
- International Seed Testing Association (ISTA), 2017. *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- Jawad Hassan, M., Ali Raza, M., Ur Rehman, S., Ansar, M., Gitari, H., Khan, I., Wajid, M., Ahmed, M., Abbas Shah, G., Peng, Y., Li, Z., 2021. Effect of cadmium toxicity on growth, oxidative damage, antioxidant defense system and cadmium accumulation in two sorghum cultivars. *Plants*. 9, 1575. <https://doi.org/10.3390/plants9111575>
- Jini, D. Joseph, B., 2017. Physiological mechanism of salicylic acid for alleviation of salt stress in rice. *Rice Science*. 24, 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2016.07.007>
- Kabiri, R. Naghizadeh, M., 2014. Study the effect of salicylic acid pretreatment on germination and early growth of black cumin (*Nigella sativa*) under salt stress. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 4, 61-72. https://ijssst.areeo.ac.ir/article_107272.html?lang=en
- Kar, M., D. Mishra, 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*. 57, 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- Kaya, C., 2021. Salicylic acid-induced hydrogen sulphide improves lead stress tolerance in pepper plants by upraising the ascorbateglutathione cycle. *Physiologia Plantarum*. 173, 8–19. <https://doi.org/10.1111/ppl.13159>
- Kiremit, M.S., 2023. Optimization of salicylic acid dose to improve lettuce growth, physiology and yield under salt stress conditions. *Gesunde Pflanzen*. <https://doi.org/10.1007/s10343-023-00930-4>
- Kumari, A. Pandey, N. Pandey-Rai, S., 2018. Exogenous salicylic acid-mediated modulation of arsenic stress tolerance with enhanced accumulation of secondary metabolites and improved size of glandular trichomes in *Artemisia annua* L. *Protoplasma*. 255, 139–152. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1136-6>
- Kwon, E-H. Adhikari, A. Imran, M. Lee, D-S. Lee, C-Y. Kang, S-M. Lee, I-J., 2023. Exogenous SA applications alleviate salinity stress via physiological and biochemical

- changes in st john's wort plants. *Plants*. 12, 310. <https://doi.org/10.3390/plants12020310>
- Mahmoudi, F., Sheikhzadeh Mosaddegh, P., Zare, N., Esmailpour, B., 2019. Improvement of seed germination, growth and biochemical characteristics of Borage (*Borago officinalis* L.) seedlings with seed priming under cadmium stress conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 11, 23-42. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2019.111889.1104>
- Mahmoudi, F., Shikhzadehmosadegh, P., zare, N., Esmailpour, B., 2023. Effect of seed pretreatment with salicylic acid on seed germination, growth and biochemical indices of quinoa seedlings (*Chenopodium quinoa* Willd.) under cadmium stress. *Journal of Plant Biological Sciences*, 15, 1-26. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2024.138548.1330>
- Mostofa, M.G. Rahman, M. Ansary, M. Uddin, M. Fujita, M. Tran, L.S.P., 2019. Interactive effects of salicylic acid and nitric oxide in enhancing rice tolerance to cadmium stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 20, 5798. <https://doi.org/10.3390/ijms20225798>
- Murungu, F.S. Nyamugafata, P. Chiduzi, C. Clark, L.J. Whalley, W.R. 2003. 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*. 74, 161-168. <https://doi.org/10.1016/j.still.2003.06.003>
- Naeem, A.B., M., Imran, M., Murtaza, B., Nadeem, M., Jacobsen, S., 2021. Assessment of cadmium and lead tolerance potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) and its implications for phytoremediation and human health. *Environmental Geochemistry and Health*. 44, 1487 - 1500. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-00826-0>.
- Naik, S., Paramesh, R., Siddaraju, R., Ravi Shankar, P., 2020. Studies on growth parameters in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *International Journal of Chemical Studies*. 8, 393-397. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i1f.8278>
- Najafi, Gh. Khomari, S. Javadi, A., 2015. Germination response of Canola seeds to seed vigor changes and hydro-priming. *Seed Science Research*. 45, 55-70. <https://doi.org/20.1001.1.22520961.1394.5.17.6.9>
- Ocvirk, D. M, Špoljarević. M, Kristić. J T, Hancock. T, Teklić. M, Lisjak., 2021. The effects of seed priming with sodium hydrosulphide on drought tolerance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in germination and early growth. *Annals of Applied Biology*. 178, 400-413.0000. <https://doi.org/10.1111/aab.12658>
- Pai, R. Sharma, P.K., 2023. Exogenous application of salicylic acid mitigates salt stress in rice seedlings by regulating plant water status and preventing oxidative damage. *Environmental and Experimental biology*. 20(4), 193-204. <https://doi.org/10.22364/eeb.20.18>
- Pai, R. Sharma, P.K., 2022. Exogenous application of salicylic acid mitigates salt stress in rice seedlings by regulating plant water status and preventing oxidative damage. *Environmental and Experimental Biology*. 20(4), 193-204.
- Pruthvi Krishna, V. Vinai, K. Dipti, B., 2023. Foliar application of silicon and salicylic acid improves growth, leaf pigments and yield of maize (*Zea mays* L.) under nutrient deficient sandy soil. available at Research Square. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3144795/v1>
- Rahmanpour, A., Vaziri, A., Salehi Shanjani, P., Rabie, M., Asri, Y., 2021. Effect of osmo-priming on germination in seven species of Allium L. seeds in drought stress conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 34, 855-868. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.23832592.1400.34.4.11.4>
- Rahoui, S., Chaoui, A., Elferjani, E., 2010. Reserve mobilization disorder in germinating seeds of *Vicia faba* L. exposed to cadmium. *Journal of Plant Nutrition*. 33, 809-817. <https://doi.org/10.1080/01904161003654055>
- Rehman, S., Abbas, G., Shahid, M., Saqib, M., Farooq, A.B.U., Hussain, M., Farooq, A., 2019. Effect of salinity on cadmium tolerance, ionic homeostasis and oxidative stress responses in conocarpus exposed to cadmium stresses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 171, 146-153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.077>
- Salehzade, H. M. Izadkhah Shishvan, M. Chiyasi, F. Forouzin, A., 2009. Effect of seed priming on germination and seedling growth of wheat

- (*Triticum aestivum* L.). Research Journal of Biological Sciences. 4(5), 629-631. <https://www.researchgate.net/publication/299468927>.
- Santos, P. S., de Souza Guilherme, M. D. F., de Souza Guilherme, L., dos Santos Oliveira, J. L., Silva, E., 2021. Evaluation of seed germination development and initial growth of cotton plants exposed to cadmium. *Anales de Biología*. 43, 111-116. <http://doi.org/10.6018/analesbio.43.11>
- Shahid, M., Farooq, A.B.U., Rabbani, F., Khalid, S., Dumat, C., 2019. Risk assessment and biophysiochemical responses of spinach to foliar application of lead oxide nanoparticles: A multivariate analysis. 245, 125605. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125605>
- Sharafizadeh, M., 2017. Effect of salicylic acid and drought stress on germination and activity of antioxidant enzymes of barley. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 6, 161-169. <https://doi.org/10.22034/ijssst.2018.116567>
- Sheikhzadeh, P., Zare, N., Mahmoudi, F., 2021. The synergistic effects of hydro and hormone priming on seed germination, antioxidant activity and cadmium tolerance in borage. *Acta Botanica Croatica*, 80, 18–28. <https://doi.org/10.37427/botcro-2021-007>
- Singhal, R.K., Kumar, M., Bose, B., Mondal, S., Srivastava, S., Dhankher, O.P., Tripathi, R.D., 2022. Heavy metal (loid)s phytotoxicity in crops and its mitigation through seed priming technology. *International journal of phytoremediation*, 1-20. <https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2068502>
- Tajti J. Németh, E. Glatz, G. Janda, T. Pál, M., 2019. Pattern of changes in salicylic acid-induced protein kinase (SIPK) gene expression and salicylic acid accumulation in wheat under cadmium exposure. *Plant Biology*. 21, 1176–1180. <https://doi.org/10.1111/plb.13032>
- Tania, S.S. Rahaman, M.M. Rauf, F. Suborna, M. A. Humayun Kabir, M. Hoque, M. A. Rhaman, M.S., 2021. Seed priming with salicylic acid (SA) and hydrogen peroxide (H₂O₂) improve germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress. *Asian Journal of Crop Science*. 6, 60-69. <https://doi.org/10.3390/seeds1020008>
- Tarigholizadeh, S., Motafakkerazad, R., Kosarinasab, M., Movafeghi, A., Mohammadi, S., Sabzi, M., Talebpour, A., 2021. Influence of plant growth regulators and salicylic acid on the production of some secondary metabolites in callus and cell suspension culture of *Satureja sahendica* Bornm. *Acta Agriculturae Slovenica*. 117, 1–12. <https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.4.773>
- Tayyab, N. Naz, R. Yasmin, H. Nosheen, A. Keyani, R. Sajjad, M. Hassan, M. N. Roberts, T. H., 2020. Combined seed and foliar pre-treatments with exogenous methyl jasmonate and salicylic acid mitigate drought induced stress in maize. *PLoS One* 15, e0232269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232269>
- Torun, H. Cetin, B. Stojnic, S. Petri, 'k P., 2024. Salicylic acid alleviates the effects of cadmium and drought stress by regulating water status, ions, and antioxidant defense in *Pterocarya fraxinifolia*. *Frontiers in Plant Science*. 14, 1339201. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1339201>
- Vijayaragavan, M., Prabhakar, C., Sureshkumar, J., Natarajan, A., Vijayaragavan, P., Sharavanan, S., 2011. Toxic effect of cadmium on seed germination, growth and biochemical contents of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) plants. *International Multidisciplinary Research Journal*. 1, 1–6.
- Yari, L., Zareyan, A., Sheidaie, S., Khazaei F., 2012. Influence of high and low temperature treatments on seed germination and seedling vigor of rice (*Oryza sativa* L.). *World Applied Sciences Journal*. 16, 1015-1018. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:5965608>
- Zhang, S., Ni, X., Arif, M., Zheng, J., Stubbs, A., Li, C., 2020. NaCl improved Cd tolerance of the euhalophyte *Suaeda glauca* but not the recretohalophyte *Limonium aureum*. *Plant and Soil*. 449, 303–318. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04475-7>
- Zhao, H., Guan, J., Liang, Q., Zhang, X., Hu, H., Zhang, J., 2021. Effects of cadmium stress on growth and physiological characteristics of safflower seedlings. *Scientific Reports*. 11, 9913. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89322-0>