J. Crop Product. Process. 2025, 15(1), 55-70; DOI: 10.47176/jcpp.15.1.30861

Journal of Crop Production and Processing

Journal homepage: https://jcpp.iut.ac.ir/

Original Article

Effect of Seed Priming with Extracts of Beeswax Waste, Vermicompost, and Cordia Residues on Response of Marigold (*Calendula officinalis*) to Cadmium-induced Oxidative Stress

Rezvan Javari[1], Nasibeh Pourghasemian[2*], Mohadeseh Shamsoddin saeed[3] and Ruhollah Moradi[4]

1. M.Sc. Graduate of medicinal plant, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2 and 3. Associate Professor and Assistant Professor, Respectively, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
4. Associate Professor, Department of Plant Production, University of Torbat Heydarieh, Torbat Heydarieh, Iran

Extended Abstract

Introduction: Cadmium, a heavy and hazardous metal with an atomic number of 48, is increasingly disseminated in agricultural soils and negatively affects plants due to its high solubility in water. The toxic distribution of this element in soils and plants leads to reduced germination, impaired plant growth, and diminished activities of antioxidant enzymes. Marigold, belonging to the Asteraceae family, possesses the ability to absorb cadmium from contaminated soils and is recognized as an ornamental and medicinal plant. Furthermore, employing seed priming techniques can enhance the plant's resistance to environmental stresses, including cadmium exposure. This study investigates the effects of marigold seed pre-treatment on growth, physiological traits, and antioxidant activity under cadmium stress conditions.

Materials and Methods: To investigate the effects of marigold seed pre-treatment on growth and biochemical characteristics under cadmium stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replicates at the Agricultural Higher Education Center in Bardseer, southest of Iran. The study included two factors: varying cadmium levels (0, 30, 40, and 60 mg/kg of soil) and four types of seed priming (beeswax pomace, vermicompost, cordia fruit extract, and no priming). To prepare organic extracts, dried and ground materials were mixed with distilled water and filtered after 48 h on a shaker. Seeds were soaked in these extracts for 12 hours before being sterilized and sown. The dry weight of aerial organs was measured, and biochemical characteristics such as phenolic content, anthocyanins, proline, protein, chlorophyll, carotenoids, and antioxidant enzyme activities were assessed. Analysis of variance was performed using SAS software, and mean comparisons were conducted using the LSD test.

Results: The results indicated that increasing levels of cadmium stress significantly decreased the leaves/plant, flowers/plant, dry flower weight, dry plant weight, concentration of chlorophyll, protein, and soluble sugars, and

Received: Jul. 10, 2024; Revised: Nov. 18, 2024; Accepted: Nov. 19, 2024; Published Online: Mar. 15, 2025.
* Corresponding Author: n.pourghasemian@uk.ac.ir

Journal of Crop Production and Processing

Journal homepage: https://jcpp.iut.ac.ir/

catalase enzyme activity in marigold plants. However, cadmium stress elevated the content of the guaiacol peroxidase enzyme, anthocyanins, phenols, and proline concentrations. The effects of priming with different organic materials yielded varying results across different traits, with the effects of vermicompost extract and beeswax pomace being more pronounced compared to tamarind extract. Additionally, as the severity of cadmium stress increased, the positive role of seed priming in mitigating negative stress effects became more evident. Particularly, at the stress level of 60 mg of cadmium per kg of soil, seed priming using vermicompost and beeswax resulted in approximately 66% and 54% increases in mean plant dry weight, respectively, compared to the control, while at the stress level of 40 mg, the increases were 12% and 7%, respectively. However, under non-stress conditions and at the 60 mg per kg cadmium stress level, priming did not affect chlorophyll content. Seed priming with organic materials, especially vermicompost and beeswax pomace, exerted different influences on the activities of GPX and catalase antioxidant enzymes under both stress and non-stress conditions. Under non-stress treatment, priming did not affect guaiacol peroxidase enzyme activity; however, at cadmium stress levels of 30 and 60 mg per kg, seed priming with vermicompost yielded higher guaiacol peroxidase enzyme activity compared to the control and other treatments. At the stress level of 40 mg of cadmium per kg, no significant differences were observed among the seed priming with vermicompost, beeswax, and cordia extract compared to the control. Meanwhile, the application of all three priming extracts (vermicompost, beeswax, and cordia) significantly increased catalase enzyme activity across all levels of cadmium stress, with seed priming using vermicompost and, to a lesser extent, beeswax pomace producing higher catalase enzyme levels than the control and other treatments. In this study, soluble sugar content increased under all three cadmium stress levels with the application of priming materials, with vermicompost and, to a lesser extent, beeswax pomace showing the best effects among the priming treatments. Furthermore, beeswax and vermicompost extracts led to a 44% increase in phenolic content in marigold plants under 30 and 40 mg per kg cadmium stress conditions.

Conclusion: The results of this study indicate that cadmium, as a heavy metal, has detrimental effects on the growth and biochemical attributes of marigold plants. According to the data obtained, increasing levels of cadmium resulted in a significant reduction in the leaves/plant, flowers/plant, dry flower weight, dry plant weight, chlorophyll and protein concentrations. However, cadmium stress led to an increase in the activity of antioxidant enzymes such as guaiacol peroxidase, as well as anthocyanins and phenols concentrations. Seed priming with organic materials, particularly vermicompost and beeswax pomace, significantly enhanced the plant's resistance to cadmium stress. At high levels of cadmium, these methods contributed to increased plant dry weight and enhanced antioxidant enzyme activities. Particulrlly, seed priming with vermicompost and beeswax pomace demonstrated greater efficacy in alleviating the negative effects of cadmium, allowing these methods to significantly maintain plant health under stress conditions through increased antioxidant activity and osmotic regulation. Therefore, these seed pre-treatment methods have the potential to be incorporated into agricultural optimization programs to enhance plant resistance to environmental stresses, particularly those arising from heavy metal contamination.

Keywords: Enzyme, anthocyanins, Proline, Phenols

How to Cite: Javari R., Pourghasemian N., Shamsoddin saeed M., Moradi R. Effect of seed priming with extracts of beeswax waste, vermicompost, and cordia residues on response of marigold (*Calendula officinalis*) to cadmium-induced oxidative stress. *J. Crop Product. Process*. 2025, 15(1), 55-70. (*In Persian*). DOI: 10.47176/jcpp.15.1.30861

Copyright © 2025 Isfahan University of Technology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۱۴۰۴، دوره ۱۵، شماره ۱، ص. ۷۰-۵۵، DOI: 10.47176/jcpp.15.1.30861

نشریه تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی
صفحه خانگی نشریه: https://jcpp.iut.ac.ir/

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پیش تیمار بذر همیشه بهار (*Calendula officinalis*) با عصاره تفاله موم زنبور عسل، ورمی‌کمپوست و سپستان در پاسخ به تنش اکسیداتیو کادمیوم

رضوان جاوری[۱]، نسیبه پورقاسمیان[۲*]، محدثه شمس الدین سعید[۳] و روح اله مرادی[۴]

چکیده- جهت بررسی پتانسیل پرایمینگ بذرگیاه همیشه‌بهار با عصاره برخی مواد آلی بر افزایش مقاومت این گیاه به اثر سمیت کادمیوم مطالعه‌ای گلدانی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار درگلخانهٔ تحقیقاتی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه باهنر کرمان در سال ۱۴۰۱ طراحی شد. فاکتور اول، تنش کادمیوم در چهار سطح (۰، ۳۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک) و فاکتور دوم پیش تیمار بذر گیاه همیشه بهار با عصاره برخی مواد آلی شامل: تفاله موم زنبورعسل، ورمی کمپوست، میوه سپستان و عدم پرایمینگ بود. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش کادمیوم، صفات تعداد برگ، تعداد گل، وزن خشک گل، وزن خشک بوته، کلروفیل، پروتئین، قند محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه همیشه بهار به گونه معنی‌داری کاهش یافت. بااین‌حال، تنش کادمیوم فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز، آنتوسیانین، فنل و پرولین را افزایش داد. در این بین اثر عصاره ورمی کمپوست و تفاله موم زنبورعسل نسبت به عصاره سپستان مشهودتر بود. همچنین با افزایش شدت تنش کادمیوم نقش مثبت پرایمینگ بذر بر کاهش اثرات منفی تنش بیشتر بود. به‌طوری‌که، در سطح تنش ۶۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک، پرایمینگ بذر با ورمی کمپوست و موم زنبورعسل به‌ترتیب باعث افزایش حدود ٪ ۶۶ و ٪۵۴ میانگین وزن خشک بوته نسبت به شاهد شد، درحالی‌که در شرایط تنش ۴۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک این افزایش به ترتیب ٪۱۲ و ٪۷ درصد بود. پرایمینگ بذر با مواد آلی به‌ویژه ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبور عسل، در شرایط تنش و عدم تنش، فعالیت کاتالاز، محتوای قند، فنل و پروتئین را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بنابراین به‌نظر می‌رسد استفاده از مواد آلی مورد مطالعه مخصوصا تفاله موم زنبور عسل و ورمی کمپوست از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم اسمزی، توانست گیاه را در شرایط تنش کادمیوم محافظت کرده و به‌طور قابل‌توجهی میزان تنش را تعدیل کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، آنتوسیانین، پرولین، فنل.

دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰، بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۲۸، پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۹، اولین انتشار: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، رشته باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۲ و ۳. به‌ترتیب دانشیار و استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران

۴. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران

*: نویسنده مسئول، رایانامه: n.pourghasemian@uk.ac.ir

حق انتشار این مستند، متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است. ©۱۴۰۴.

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد حیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

مقدمه

کادمیوم عنصری دو ظرفیتی با عدد اتمی ٤٨ از عناصر سنگینی است که گسترش آن در خاک های کشاورزی رو به افرایش است این فلز سنگین به‌دلیل حلالیت بالا در آب و گسترش زیاد، فلز خطرناکی محسوب می‌شود (۳۹). میزان کافی کادمیوم در برگ‌ها بین ۰/۲–۰/۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک، میزان سمی در برگ‌ها ۳۰–۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک و میزان سمیت در خاک سطحی ۳۰–۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن خشک است و غلظت بحرانی کادمیوم در خاکه‌ای ایران ۵۰–۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (۳۸).

کادمیوم به‌واسطه رقابت با عناصر غذایی ضروری و جایگزین شدن با آنها به طور غیرمستقیم سبب مسمومیت گیاه می‌شود (۱۲). از جمله علائم مشهود سمیت کادمیوم می‌توان به کاهش جوانه‌زنی، رشد گیاهچه‌ها، مهار رشد گیاه، کاهش وزن خشک بوته و دانه و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره کرد (۱۷). این فلز سنگین با تخریب ساختار کلروپلاست، کاهش میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تثبیت CO_2، موجب تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌شود (۹).

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*. L) گیاهی یکساله و یکی گیاهان زینتی– دارویی خانواده کاسنی (Asteraceae) می‌باشد که در فضای سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد که توانایی رشد در مناطق آلوده را نیز دارد. منشأ آن نواحی مدیترانه‌ای است. گل‌های این گیاه به رنگ زرد یا نارنجی و حاوی مواد مؤثره اسانس، فلاونوئید، ساپونین و کاروتنوئید بوده و دارای اثرات درمانی ضدالتهاب، التیام زخم، میکروب‌کشی و ضدتشنج است (٣٤).

پژوهشگران در مطالعه توانایی سه گونه گیاه زینتی (همیشه بهار، تاج خروس و آفتابگردان زینتی) در جذب و انتقال کادمیم از خاک‌های آلوده به کادمیوم نشان دادند که همیشه بهار و تاج خروس گیاهان جذب‌کننده کادمیوم هستند. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش سطح کادمیوم در خاک، میزان جذب و انتقال کادمیوم در گیاهان نیز افزایش می‌یابد و بین گونه‌های مختلف گیاهان تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد (۱۱). در مطالعه‌ای که پتانسیل گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*) را در استخراج کادمیوم از خاک بررسی کرده بودند، گزارش نمودند غلظت بالای کادمیوم در خاک باعث کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه می‌شود. بالاترین سطح کادمیوم خاک (۱۰۲ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک) موجب شد وزن تر اندام هوایی در گل همیشه بهار ۷۷ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش و همچنین غلظت کادمیوم در اندام هوایی گل همیشه بهار٤٠ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش یابد (٢٤).

یکی از روش‌های موثر در کاهش تنش‌های زیست محیطی پرایمینگ بذر است. پرایمینگ بذر روشی است که به‌واسطه آن بذور پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه زنی مخصوصا در شرایط نامساعد محیطی را به‌دست می‌آورند. پرایمینگ بذور با سرعت بخشیدن به فعالیت‌های آنزیمی باعث افزایش سوخت و ساز بذر و رشد جنین می‌شود اما خروج ریشه‌چه و جوانه‌زنی بذر اتفاق نمی‌افتد (۸). انواع پرایمینگ شامل هیدروپرایمینگ (آب مقطر)، اسموپرایمینگ (محلول‌های اسمزی)، پرایمینگ ماتریکس جامد و هورمونال پرایمینگ (تنظیم‌کننده‌های رشد) هستند (۷). سلطانی و همکاران (۳۵) گزارش کردند بذرهای پیش تیمار شده نسبت به بذرهای شاهد سریعتر جوانه‌زده و مراحل مختلف رشدی را نیز سریعتر کامل کردند. بنابراین آسیب ناشی از شرایط نامساعد محیطی به بذرهای پیش تیمار شده در حال جوانه‌زنی و گیاهان به‌دست آمده از آنها کاهش خواهد یافت. پرایمینگ از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید

دسموتاز، گلوتاتیون ریداکتاز و دیگر آنزیم‌ها باعث حذف و غیر فعال شدن انواع فعال اکسیژن می‌شود (۳).

تفاله موم زنبورعسل طی فرایندهای بازیابی و آماده‌سازی موم برای زنبورعسل تولید می‌شود غنی از مواد غذایی بوده و به‌عنوان زباله دور ریخته می‌شود. این ماده به‌عنوان یک بیواستیمیولیت در ایجاد مقاومت به تنش خشکی در کنجد و در رقابت موفق با سالیسیلیک اسید شناخته شد (۳۰).

با توجه به اینکه فلزات سنگین به‌ویژه کادمیوم یکی از مهمترین تنش‌های محیطی به شمار می‌آیند، افزون بر اینکه منجر به کاهش رشد و تولید گیاهان می‌شوند، سلامت انسان را تهدید می‌کنند. بنابراین یافتن روش‌های جلوگیری یا کاهش تاثیر منفی فلزات سنگین مورد توجه پژوهشگران می‌باشد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر پیش تیمار بذور همیشه بهار بر رشد و صفات فیزیولوزیکی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در شرایط تنش کادمیوم بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر پیش تیمار بذر گیاه همیشه‌بهار با مواد آلی انتخاب شده از مطالعه قبلی بر رشد و ویژگی‌های بیوشیمیایی در شرایط تنش کادمیوم آزمایشی به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی مرکز آموزش عالی کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۱٤۰۱ اجرا شد. فاکتور اول کادمیم در چهار سطح (۰، ۳۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بر اساس مطالعه در پتری دیش در ۹ سطح انتخاب شد و فاکتور دوم چهار نوع پرایمینگ بذر با عصاره مواد آلی مختلف (تفاله موم زنبورعسل، ورمی کمپوست، سپستان و عدم پرایم) در نظر گرفته شد.

جهت آماده‌سازی عصاره مواد آلی (تفاله موم زنبورعسل، ورمی کمپوست و میوه سپستان)، ابتدا مواد مورد نظر خشک و توسط آسیاب برقی مدل (A11B, IKA) پودر شدند. سپس با آب مقطر به نسبت ۱ به ۵ مخلوط و به مدت ٤۸ ساعت در شیکر مدل (Ks260, IKA) قرار گرفته و صاف شدند. جهت پیش تیمار با عصاره مواد آلی و گیاهی؛ بذور همیشه بهار به مدت ۱۲ ساعت در عصاره مربوطه خیسانده شدند. پس از آن بذرها با آب مقطر شسته و در آون دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا رطوبت اولیه خشک شوند.

برای اعمال تیمار کادمیوم در خاک، مقادیر کادمیوم مورد استفاده محاسبه و به خاک اسپری شد، سپس خاک به مدت یک ماه در گلخانه تحقیقاتی با رطوبت در حد ظرفیت زراعی انکوبه شد. بذرهای پیش تیمار شده، ضدعفونی و پس از نشا، در گلدان‌های آماده کاشته شدند.

گل و برگ در هر گلدان شمارش شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های هوایی (برگ و گل) نمونه‌های گیاهی برای مدت ٢٤ ساعت در آون ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس با ترازوی دیجیتال وزن شدند. مقدار فنل کل، آنتوسیانین، پرولین، پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و گایاکول پراکسیداز، قندهای محلول، محتوای رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید از برگ تازه مورد سنجش قرار گرفتند.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ٢٤۰ نانومتر و با روش ولیکووا و همکاران (٣٦) انجام شد.

سنجش فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز با استفاده از تغییرات جذب در سه دقیقه در ٤۷۰ نانومتر و ضریب خاموشی تتراگایاکل 5/25 mMol-1 cm-1، مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه شد.

محتوای پلی‌فنل کل بر اساس روش گووا و همکاران (١٤) با استفاده از معرف فولین اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم از بافت گیاهی عصاره‌گیری و در طول موج ۷٥٦ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Germany Spekol 2000) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی پارامترهای رشدی گیاه همیشه‌بهار تحت تنش کادمیوم و پرایمینگ بذر

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	تعداد گل	وزن خشک گل	وزن خشک بوته
تنش کادمیوم	۳	٦٧/٨**	٦١/٩*	٠/٢٤**	٢/١٤**
پرایمینگ	۳	٤٦/٦**	٩/٦١**	٠/٠٢٥**	٠/١٧**
تنش کادمیوم ×پرایمینگ	۹	١٣/٤**	١/٣١*	٠/٠٠٥ns	٠/٠٣٨**
خطا	٣٢	١/٦٨	٠/١٦	٠/٠٠٦	٠/٠٠١

** و *به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns غیر معنی‌دار.

از روش وانگر (۳۷) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های اندام هوایی استفاده شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاه عصاره‌گیری و در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی M-1Cm-1 33000 انجام شد.

استخراج پرولین از بافت تر گیاهی بر اساس روش بیتس (۲) انجام گرفت. ۰/۵ گرم مادهٔ تر گیاهی عصاره‌گیری و در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت و منحنی استاندارد رسم شد.

مقدار کلروفیل کل با استفاده از روش لیچنتالر (۲۰) اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون تعیین شد (۳۳). ۰/۱ گرم بافت تر برگ عصاره‌گیری و در طول موج ٦٢٥ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار قند از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد.

برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (٤).

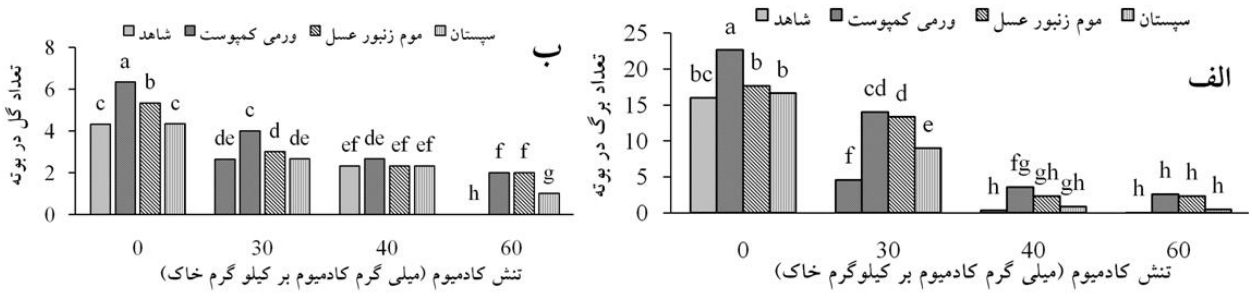
تجزیه واریانس داده‌ها با برنامهٔ SAS ورژن ٩/٤ صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دارد (LSD) انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت‌گرفت.

نتایج و بحث

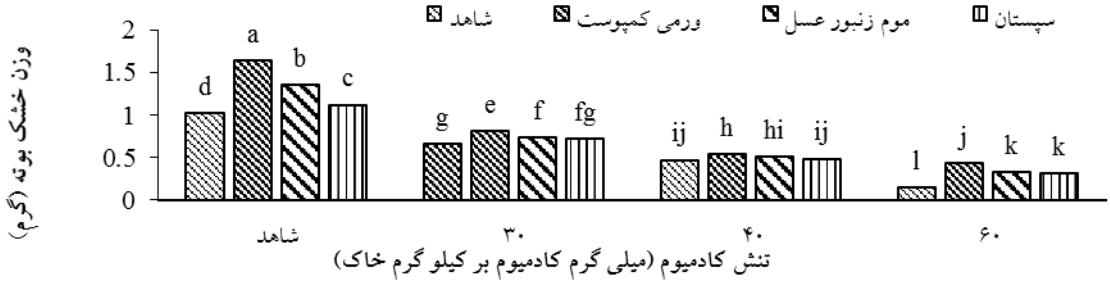
صفات مرفولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس پارامترهای رشدی شامل تعداد برگ، تعداد گل، وزن خشک گل و وزن خشک بوته نشان داد که همه صفات مذکور تحت تاثیر تنش کادمیوم و پرایمینگ در سطح احتمال ۱ درصد قرار گرفتند. همچنین همه صفات فوق به جز وزن خشک گل تحت اثر برهم‌کنش کادمیوم در پرایمینگ قرار گرفتند (جدول ۱).

در شرایط عدم تنش و کاربرد پرایمینگ ورمی کمپوست، بیشترین تعداد برگ، تعداد گل و وزن خشک کل بوته به‌ترتیب ٢٢/٦ برگ در بوته، ٦/٣٣ گل در بوته و ١/٦٤ گرم وزن خشک کل بوته مشاهده شد (شکل ۱– الف و ب و شکل ۲). پرایمینگ موم زنبورعسل در درجه دوم اهمیت قرار داشت و در شرایط موجود سبب افزایش معنی‌داری در صفات فوق شد، هر چند در تیمار با عصاره میوه سپستان نیز نسبت به شاهد سبب این افزایش شد (شکل۱– الف). ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل به‌عنوان یک بیواستیمولیت جدید، حاوی مواد مغذی حلال در آب



شکل۱. بر همکنش پرایمینگ و تنش کادمیوم بر تعداد برگ (الف) و تعداد گل در بوته (ب) در گیاه همیشه بهار، میانگینهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

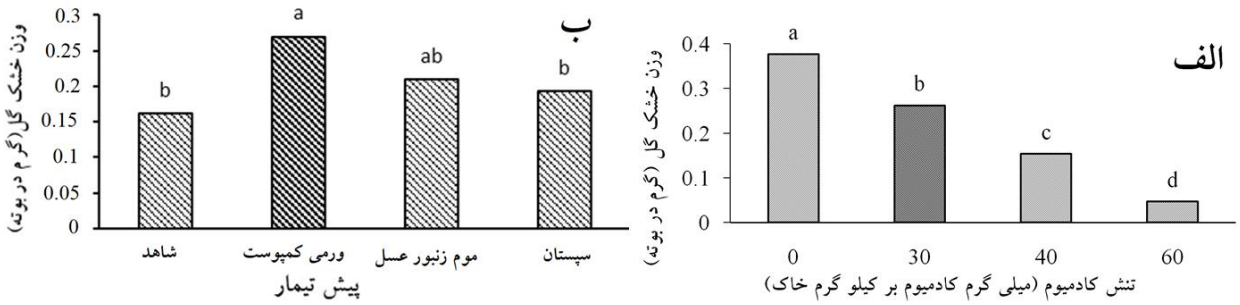


شکل ۲. بر همکنش اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم و پرایمینگ بر وزن خشک بوته در گیاه همیشه‌بهار، میانگینهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

مانند نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، مس، روی و منگنز است همچنین این ترکیبات با تحریک فعالیت ریز جانداران در مواد آلی، سبب جوانه‌زنی بذر و رشد بهتر گیاهچه شده و درنهایت به رشد بهتر گیاه کمک می‌کند (۱۰ و ۳۰).

در شرایط تنش ۳۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم تمامی تیمارها نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ و عدم تنش) در تعداد برگ ، تعداد گل و وزن خشک کل بوته کاهش نشان دادند (شکل ۱- الف و ب و شکل ۲). بیشترین کاهش در تیمار تنش کادمیوم (٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و عدم پرایمینگ مشاهده شد. برای وزن خشک بوته (که به‌عنوان معیاری از عملکرد درنظر گرفته می‌شود و تعداد برگ و تعداد گل می‌توانند از اجزا و زیر واحدهای آن باشند) سطوح ۳۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک به‌ترتیب کاهش ۳۵ ، ۵۳ و ۸۵ درصدی را نشان دادند (شکل ۲). در سطوح تنش، هر سه پرایمینگ بذر (ورمی کمپوست، تفاله موم زنبورعسل و سپستان) توانستند نسبت به شاهد در تنش، شرایط بهتری را برای رشد و تولید ماده خشک در گیاه فراهم کنند. روند پاسخ گیاه به سه نوع پرایمینگ انتخابی در شرایط تنش مانند عدم تنش بود (شکل ۱- الف و ب و شکل ۲).

پیش تیمار بذر باعث تعدیل اسمزی و افزایش سنتز کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها نسبت به گیاهان شاهد در شرایط تنش می شود (۳۸).



شکل ۳ . اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم (الف) و پیش تیمار بذر (ب) بر وزن خشک گل در گیاه همیشه‌بهار، میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند

بذر به‌واسطه ی پرایمینگ و پیش از قرار گرفتن در بستر خود به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دچار تغییر می‌شود که تبعات حاصل از آن نیز در گیاه دیده می‌شود به‌طور کلی این موارد را می‌توان در چگونگی جوانه زنی، استقرار اولیه گیاهچه و محصول مشاهده کرد (۳۵). حیدرپور و همکاران (۱٦) با مطالعه تاثیر پرایمینگ با ورمی کمپوست بر گیاه مرزه متوجه شدند که تاثیر پرایمینگ با ورمی کمپوست بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاهان را به‌همراه دارد. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که پرایمینگ بذر می‌تواند به گیاه همیشه بهار کمک کند تا مقاومت خود را در برابر تنش کادمیوم از طریق افزایش تعداد برگ، تعداد گل و وزن خشک کل (شکل ۱- الف و ب و شکل ۲). افزایش دهد.

از آنجایی که عصاره‌های مورد استفاده در این مطالعه، از بین چندین ماده آلی در یک پیش آزمایش و در مرحله جوانه زنی گیاه همیشه بهار انتخاب شده بودند (اعداد آورده نشده است)، هر سه آنها در شرایط کشت گلدانی و در مطالعه حاضر نیز پاسخ مناسب دادند. با این‌حال از بین اینها، عصاره ورمی کمپوست و تفاله موم پاسخ بهتری داشتند. هر دو ماده سرشار از مواد مغذی بوده و همچنین به‌نظر می‌رسد در ایجاد مقاومت ثانویه در گیاهچه نقش داشته‌اند (۲۱).

پورقاسمیان و همکاران (۳۱) در مطالعه‌ای بر اثر پیش تیمار با عصاره تفاله موم زنبور عسل بر تنش خشکی کنجد بیان داشتند که عناصر غذایی موجود در عصاره تفاله موم زنبور عسل، محیط اسمزی مناسبی ایجاد می‌کنند تا بذور کنجد بتوانند با سرعت بیشتری آب را جذب کرده و در نگهداری آب تواناتر باشند. این قدرت جذب بیشتر آب و سرعت بالاتر رشد اولیه گیاه، سبب افزایش عملکرد و قدرت مقاومت بالاتر گیاه در شرایط تنش خواهد شد (۲۸). در مطالعه حاضر نیز محیط اسمزی ایجاد شده به‌واسطه پیش تیمار با عصاره های انتخابی، شرایط رشد اولیه و استقرار بهتری را برای گیاهچه‌ی همیشه بهار فراهم نمود.

سطوح تنش ۳۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم به‌ترتیب سبب کاهش وزن خشک گل به‌میزان ۳۰، ٦۰ و ۸۹ درصدی نسبت به شاهد شد (شکل ۳- الف). این کاهش نتیجه‌ی قابل پیش‌بینی بود، بااین‌حال، میزان کاهش و واکنش گیاهان مختلف به سطوح متفاوت کادمیوم یکسان نیست. گیاه همیشه بهار نسبت به برخی گیاهان دیگر مقاومت قابل‌توجهی را نشان داد.

در مطالعه‌ای که توسط پورقاسمیان و همکاران (۲۹) روی اثر کادمیوم بر کشت گلدانی گلرنگ انجام شده بود، سطح ۱۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک کاهش قابل‌توجهی در رشد و تولید گل را در ژنوتیپ‌های مختلف این گیاه نشان داد. همچنین استفاده

جدول ۲. تجزیه واریانس(میانگین مربعات) صفات بیوشیمیایی گیاه همیشه‌بهار تحت تنش کادمیوم

متابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل	آنزیم GPX	آنزیم CAT	آنتوسیانین	پروتئین	قند محلول	پرولین
تنش کادمیوم	۳	۰/۵۲**	۲/٤۰**	۰/۱۹**	۰/۰۲**	٤۳٤۳**	۰/۷۱**	۱۱/۱**
پرایمینگ	۳	۰/۰۱٦**	۰/۱۷**	۲/۲٦**	۰/۰۰۱**	۳۱۷**	۰/۰۷۲**	۱/۸۲**
تنش کادمیوم ×پرایمینگ	۹	۰/۰۰۲**	۰/۰۵۷*	۰/۰۲**	۰/۰۰۰۱ns	۳۳/۵*	۰/۰۰٦*	۰/٤۸ns
خطا	۳۲	۰/۰۰۰٦	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱٦	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰٦	۰/۰۰۰٤	۰/۱۹

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

از مواد آلی به‌عنوان پرایمینگ روی وزن گل نیز موثر بود به‌طوری‌که این صفت بیشترین تاثیر را از پرایمینگ با ورمی کمپوست و پس از آن از تفاله موم زنبور عسل پذیرفت (شکل ۳-ب) مطالعات نشان داده‌اند که پرایمینگ با ورمی کمپوست می‌تواند فعالیت ریزجانداران را تحریک کرده و مواد آلی را در خاک تولید کند. این مواد آلی می‌توانند به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهان عمل کنند و سبب تحریک گلدهی و رشد آن شوند. افزایش وزن خشک گل می‌تواند ناشی از افزایش جذب مواد مغذی، بهبود رشد و توسعه گیاهچه‌ها و افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها باشد (۲۷).

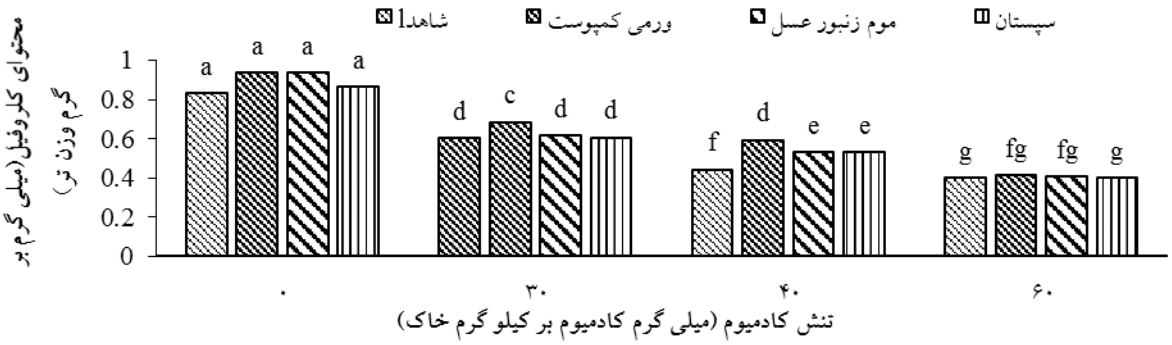
صفات بیوشیمایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات تنش کادمیوم، پرایمینگ بذر و برهم‌کنش تنش کادمیوم و پرایمینگ در سطح احتمال ۱ درصد بر محتوای کلروفیل، محتوای آنزیم‌های GPX، CAT، پروتئین و قند محلول قرار گرفت. بااین‌حال، محتوای پرولین و آنتوسیانین تنها تحت تاثیر اثرات ساده عوامل مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۲).

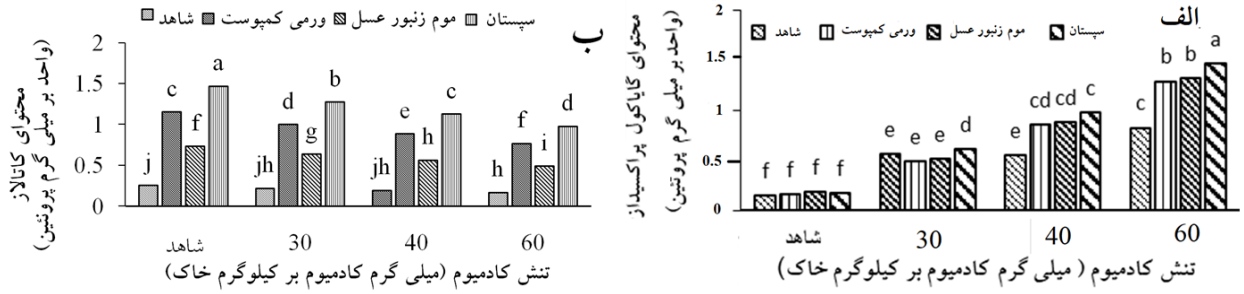
با افزایش تنش کادمیوم از محتوای کلروفیل کاسته شد و بیشترین کاهش کلروفیل در سطح کاربرد ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم مشاهده شد. در شرایط عدم تنش و تنش در سطح ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم، کاربرد پرایمینگ تاثیری بر محتوای کلروفیل نداشت (شکل ٤). در سطح تنش ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پرایمینگ با ورمی‌کمپوست نسبت به شاهد سبب افزایش ۱۳ درصدی در محتوای کلروفیل شد. سطح آلودگی ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، این افزایش برای ورمی کمپوست، تفاله موم زنبور عسل و سپستان به ترتیب ۳۳، ۲۰ و ۱۹ درصد گزارش شد (شکل ٤).

به‌نظر می‌رسد افزایش غلظت کادمیوم باعث افزایش آسیب‌های اکسیداتیو، اختلال در متابولیسم و کاهش رشد گیاه شده است. پرایمینگ می‌تواند به کاهش برخی از این آسیب‌ها کمک کند. با این‌حال، در غلظت‌های بالای کادمیوم، اثرات سمی کادمیوم غالب شده و پرایمینگ نتوانست از آسیب‌های ناشی از آن جلوگیری کند و تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پرایمینگ و شاهد مشاهده نشد (شکل ٤)، این مسئله می تواند به‌دلیل کاهش سطح ویژه برگ در سطوح بالاتر کادمیوم باشد که درنهایت به افزایش کلروفیل در شرایط تنش منجر می‌شود (٦).

تنش کادمیوم سبب افزایش محتوای آنزیم GPX شد، بطوریکه در تیمار کادمیوم ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عدم کاربرد کادمیوم (۰/۸۲) نسبت به تیمار عدم تنش کادمیوم و عدم پرایمینگ (۰/۱۵) به میزان ٤/۵ برابر افزایش نشان داد(شکل ۵- الف).



شکل ٤. بر همکنش اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم و پرایمینگ بر محتوای کلروفیل در گیاه همیشه بهار، میانگینهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.



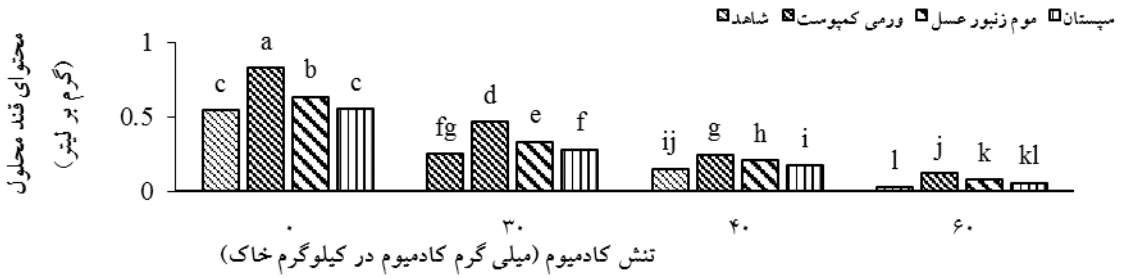
شکل٥. بر همکنش اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم و پرایمینگ بر محتوای آنزیم گایاکول پراکسیداز (الف) و کاتالاز (ب) در گیاه همیشه‌بهار. میانگینهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

بر اساس گزارش مادهو و همکاران (٢٢)، گلوتاتیون پراکسیدازها (GPXs) آنزیم مهارکننده گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) هستند که کاهش هیدروژن پراکسید را کاتالیز می‌کنند تا از آسیب هیدروژن پراکسید به سلول جلوگیری کنند، همچنین این تنش می‌تواند باعث افزایش تولید گلوتاتیون در سلول‌ها شود. این افزایش تولید گلوتاتیون، منجر به افزایش فعالیت آنزیم GPX می‌شود.

در سطح تیمار شاهد (بدون تنش کادمیوم) پیش تیمار پرایمینگ تأثیری بر فعالیت آنزیم GPX نداشت (شکل ٥– الف). در سطح تنش ٣٠ و ٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم پرایمینگ بذر با ورمی کمپوست نسبت به شاهد و سایر تیمارها محتوای آنزیم GPX بیشتری را حاصل نمود و در سطح تنش ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم میان پرایمینگ‌های بذر با عصاره ورمی کمپوست، موم زنبورعسل و سپستان نسبت به شاهد اختلاف معناداری مشاهده نشد (شکل ٥– الف).

در سطوح بالای کادمیوم، ٤٠ و ٦٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تمام پرایمینگ‌های مورد مطالعه سبب افزایش فعالیت آنزیم GPX شد، با توجه به اینکه عملکرد و اجزای آن نیز تقریبا همین نتیجه را نشان داد (شکل ١– الف، ب و شکل ٢)، به‌نظر می‌رسد این افزایش، در جهت کاهش اثر تنش اکسیداتیو بوده است.

در شرایط عدم استفاده از پرایمینگ، تنش کادمیوم در سطوح ٣٠ و ٤٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به عدم استفاده از کادمیوم



شکل٦ . بر همکنش اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم و پرایمینگ بر محتوای قند محلول در گیاه همیشه‌بهار، میانگینهای با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

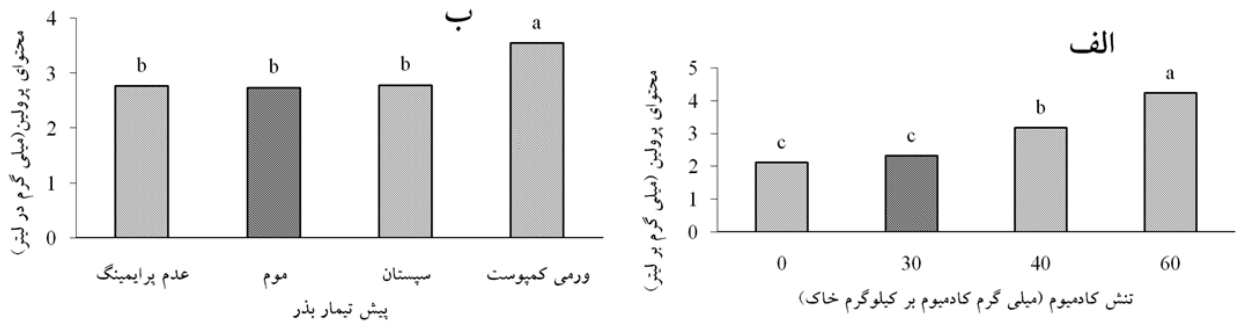
تاثیری بر محتوای آنزیم CAT نداشت و کاهش، به‌طور جدی از سطح ٦۰ میلی‌گرم کادمیوم بر کیلوگرم خاک شروع شد (شکل ۵- ب). این نتایج نشان می‌دهد که یک سطح آستانه از تنش کادمیوم وجود دارد که می‌تواند سبب آسیب اکسیداتیو و مهار سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان شود (۲۲). این مطالعات در راستای مطالعه حاضر گویای آسیب این آنزیم از تنش کادمیوم است. به‌طوری‌که به‌نظر می‌رسد کاتالاز در شرایط عدم استفاده از پرایمینگ نه‌تنها نقش حفاظتی مؤثری در کاهش این تنش نداشته؛ بلکه ساختار خود آنزیم نیز در سطح بالا، در مطالعه حاضر (٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) آسیب‌دیده است.

تأثیر تنش کادمیوم بر محتوای آنزیم کاتالاز در گیاهان بین پژوهش‌های مختلف، همخوانی ندارد. برخی از پژوهش‌ها کاهش فعالیت CAT را در گندم (۲۱) و برنج (١٤) گزارش کردند، درحالی‌که برخی دیگر افزایش فعالیت CAT را در قارچ چنبری (*Agaricus brasiliensis*) مشاهده نمودند (۳۲). این اختلافات ممکن است به‌دلیل تفاوت در گونه گیاه، غلظت کادمیوم، مدت‌زمان مواجهه و روش‌های اندازه‌گیری باشد.

کاربرد هر سه سطح پرایمینگ عصاره (ورمی کمپوست، موم زنبورعسل و سپستان) نسبت به شاهد در تمام سطوح تنش کادمیوم سبب افزایش محتوای آنزیم کاتالاز شد و در تمام سطوح تنش کادمیوم، پرایمینگ بذر با ورمی کمپوست و در درجه دوم تفاله موم زنبور عسل، نسبت به شاهد و سایر تیمارها محتوای آنزیم کاتالاز بیشتری را حاصل نمود (شکل ۵- ب).

در مطالعه‌ای که توسط مبینی و همکاران (٢٦) بر تاثیر پرایمینگ بذر در دو رقم خیار انجام شد، گزارش کردند که واکنش ارقام به تیمارهای مختلف پرایمینگ متنوع بود. همچنین بین درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و آنزیم‌های کاتالاز در ریشه‌چه و ساقه‌چه همبستگی مثبت وجود داشت. در گیاهان، خیساندن بذرها به‌عنوان یک روش معمول قبل از کاشت انجام می‌شود. پرایمینگ بذر میزان اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد و همچنین تحرک مواد ذخیره شده در دانه را افزایش می‌دهد. درنتیجه بذر سریع‌تر جوانه می‌زند و گیاهچه در سطح خاک ظاهر می‌شود. در مطالعه حاضر نیز پرایمینگ بذر با ورمی کمپوست و تفاله موم زنبور عسل بیشترین تأثیر را بر روی آنزیم CAT داشت و به‌طور قابل‌توجهی سبب افزایش تولید ماده خشک و تولید گل در گیاه مورد مطالعه شد(شکل ۲ و شکل ۳- ب). وجود اسیدهای آمینه، هورمون‌ها، مواد غذایی و ترکیبات آلی دیگر در در مواد مورد مطالعه، سبب ایجاد مقاومت بیشتر در گیاه از طریق افزایش تولید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند CAT و GPX شده است.

با افزایش تنش کادمیوم محتوای قند محلول کاهش یافت (شکل ٦). بیشترین کاهش در تنش ٦۰ میلی‌گرم کادمیوم بر

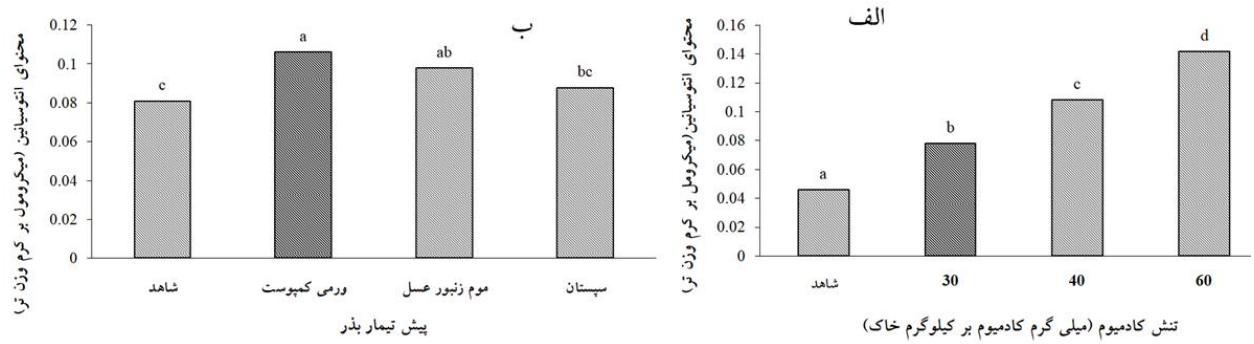


شکل ۷. اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم (الف) و پیش ر بر محتوای پرولین در گیاه همیشه‌بهار، میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

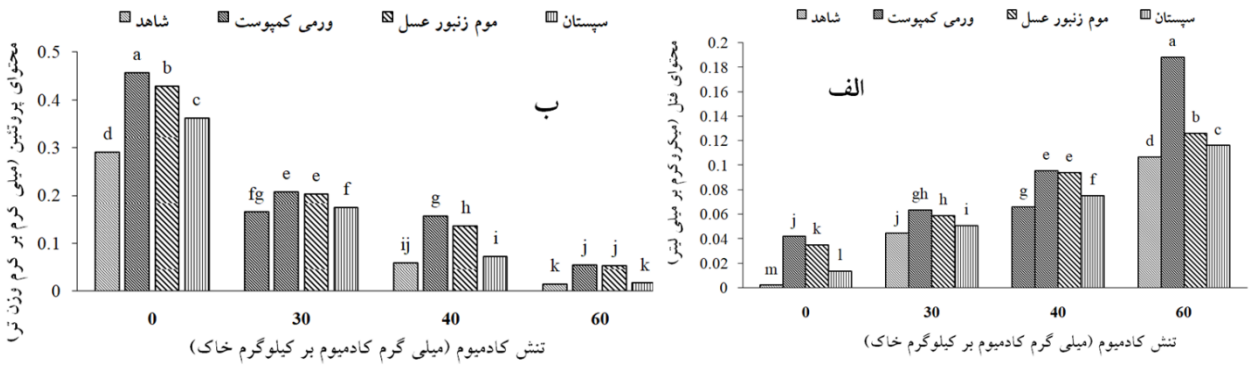
کیلوگرم خاک و عدم کاربرد پرایمینگ به میزان ۰/۰۲۵ مشاهده شد که نسبت به شاهد (عدم تنش کادمیوم و عدم کاربرد پرایمینگ) یک کاهش ۹۵ درصدی را نشان داد. در مطالعه‌ای توسط کمالوند و همکاران (۱۸) بر روی گیاه شنبلیله تحت تنش کادمیوم انجام شد بیان داشتند که محتوای قند محلول تحت تنش کادمیوم کاهش یافت. کاهش قندهای محلول در شرایط تنش می‌تواند به‌دلیل مصرف قندها در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام هوایی باشد (۱). در مطالعه حاضر نیز این فرایند رخ داد. با افزایش تنش کادمیوم میزان پرولین به‌عنوان یک ماده محلول سبب تنظیم فشار اسمزی و افزایش آماس سلول‌ها شده و رشد را افزایش می‌دهد (شکل ۷- الف). همچنین کاربرد پرایمینگ، سبب افزایش تولید پرولین شد (شکل ۷- ب). پرولین سه نقش مهم را به‌عنوان کلاته کننده فلز، مولکول دفاعی آنتی‌اکسیداتیو و مولکول پیام رسان در طول تنش ایفا می‌کند (۱۵).

مطالعات مختلف نشان داد که غلظت و نوع فلز سنگین می‌تواند سبب افزایش یا کاهش میزان کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول در گیاهان شود (۱۳). در شرایط تنش فلزات سنگین افزایش کربوهیدارت‌ها از طریق تنظیم اسمزی می‌توانند سبب بهبود در فتوسنتز پایه شده و میزان متابولیت‌های اولیه را افزایش دهد (۱۵). در مطالعه حاضر، یکی از عوامل موثر در افزایش محتوای قند محلول در هر سه سطح تنش کادمیوم کاربرد پرایمینگ با مواد مورد مطالعه بود. در بین پرایمینگ‌های مورد استفاده، ورمی کمپوست بهترین ماده و بعد از آن تفاله موم زنبورعسل گزارش شد (شکل ٦). به‌عبارتی پرایمینگ با مواد مذکور از طریق کاهش اثرات مخرب تنش با کمک آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند CAT و GPX (شکل ۵- الف و ب) به گیاه کمک کرد تا بتواند کربوهیدارت‌های محلول خود را نیز افزایش داده و رشد اولیه گیاه را حفظ کند. نقش و اهمیت تجمع قندها به این دلیل است که تجمع این مواد سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری آماس می‌شوند (۱۹). این افزایش در متابولیت اولیه می‌تواند شرایط لازم برای تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها و آنتوسانین‌ها را فراهم کند.

با افزایش مصرف کادمیوم، محتوای آنتوسیانین و فنل در گیاه همیشه بهار افزایش یافت (شکل ۸- الف و شکل ۹- الف). به‌طوری که کاربرد ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم نسبت به شاهد، محتوای آنتوسیانین و فنل را به‌ترتیب حدود ۲ و ٤ برابر افزایش داد (شکل ۸- الف و شکل ۹- الف). در بین سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی، ترکیب‌های فنلی و به‌خصوص



شکل۸. اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم (الف) و پیش تیمار بذر (ب) بر محتوای آنتوسیانین در گیاه همیشه‌بهار، میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.



شکل ۹. بر همکنش اثر سطوح مختلف تنش کادمیوم و پرایمینگ بر محتوای فنل (الف) و پروتئین (ب)در گیاه همیشه‌بهار، میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

آنتوسیانین‌ها، بسیار فعال بوده و باعث حفظ گیاه در مقابل فلزات سنگین و بسیاری دیگر از تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شوند (۲۵).

کاربرد پرایمینگ‌های مختلف (ورمی کمپوست و موم زنبورعسل) توانست نسبت به شاهد محتوای بیشتری از آنتوسیانین را حاصل کند (شکل ۸- ب). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره موم و ورمی‌کمپوست، در شرایط تنش و عدم تنش سبب افزایش قابل‌توجهی در میزان فنل گیاه همیشه-بهار شد. این افزایش برای عصاره تفاله موم و ورمی کمپوست در سطوح ۳۰ و ٤۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کادمیوم، بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر در حدود ٤٤ درصد گزارش شد (شکل ۹- الف). از آنجایی‌که عصاره ورمی‌کمپوست و تفاله موم زنبور عسل سرشار از مواد غذایی و ترکیبات مختلف زیستی هستند، می‌توانند در سنتز اسید آمینه فنیل آلانین آمونیالیاز و چالکون سنتتاز موثر واقع شده و سبب تولید آنتوسیانین‌ها و فنل‌ها شوند (۵).

با افزایش تنش کادمیوم در سطوح مختلف محتوای پروتئین کاهش یافت (شکل ۹- ب). به‌طوری‌که، در تنش کادمیوم ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عدم کاربرد پرایمینگ نسبت به عدم کاربرد پرایمینگ و عدم تنش، کاهش حدود ۹٤ درصدی حاصل شد (شکل ۹- ب). با این‌حال تحریک‌کننده‌های زیستی مورد مطالعه

یعنی عصاره تفاله موم زنبور عسل و ورمی‌کمپوست توانستند این شدت از آسیب را به‌طور قابل‌توجهی کاهش داده و سبب محافظت از پروتئین‌ها شوند (شکل ۱۰– ب). مواد زیستی از طریق تحریک پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود رشد گیاه در شرایط تنش می شود (۲۳).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد با افزایش تنش کادمیوم محتوای آنتوسیانین، فنل، پرولین و فعالیت آنزیم GPX در گیاه همیشه بهار افزایش یافت. این افزایش بیانگر قدرت گیاه همیشه بهار در مقابله با تنش کادمیوم است. با این‌حال استفاده از پرایمینگ بذر با مواد مورد آزمایش در این مطالعه (عصاره ورمی‌کمپوست، موم و سپستان) توانست به‌میزان زیادی سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و تنظیم اسمزی گیاه از طریق افزایش پرولین شود. در بین مواد مذکور، عصاره تفاله موم زنبور عسل و ورمی‌کمپوست، در بسیاری موارد بدون تفاوت معنی‌دار با یکدیگر، در مقابله با تنش به گیاه کمک کردند. با توجه به اینکه تفاله موم زنبور عسل یک زباله آلی و بدون هزینه است، به‌نظر می‌رسد مصرف آن نسبت به ورمی‌کمپوست در اولویت باشد.

منابع

1. Abbaszadeh, B., E. Sharifi ashourabadi, M. H. Lebaschi, M. Naderi hajibagher Kandy and F. Moghadami. 2008. The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 23: 504-513. (In Farsi).
2. Bates, L., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
3. Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research* 14: 93-107.
4. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quan-tities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
5. Chakraborty, M., A. Karun and A. Mitra. 2009. Accumulation of phenylpropanoid derivatives in chitosan-induced cell suspension culture of Cocos nucifera. *Journal of Plant Physiology*. 166: 63-71.
6. Chaturvedi, A. K., U. Surendran, G. Gopinath, K. M. Chandran, N. K. Anjali and M. Fasil. 2019. Elucidation of stage specific physiological sensitivity of okra to drought stress through leaf gas exchange, spectral indices, growth and yield parameters. *Agriccultural of Water Managment* 222: 92-104.
7. Chiu, K. Y., C. L. Chen and J. M. Sung. 2002. Effect of priming temperature on storability of primed sh2 sweet corn. *Crop Science* 42: 1996-2003.
8. Farooq, M., S. M. A. Basra, R. Tabassum and N. Ahmad. 2006. Evaluation of seed vigour enhancement techniques on physiological and biochemical techniques on physiological basis in coars rice (*Oriza sativa* L.). *Seed Science and Technology* 34: 741-750.
9. Farooq, M., S. Ali, A. Hameed, S. A. Bharwana, M. Rizwan, W. Ishaque, M. Farid, K. Mahmood and Z. Iqbal. 2016. Cadmium stress in cotton seedlings: physiological, photosynthesis and oxidative damages alleviated by glycinebetaine. *South African Journal of Botany* 104: 61-68.
10. Geremu, T., H. Hailu and A. Diriba. 2020. Evaluation of nutrient content of vermicompost made from different substrates at mechara agricultural research center on station, west hararghe zone, Oromia, Ethiopia. *Environment and Ecology Research*, 5: 125-130.
11. Golchin, A., L. Mosala and N. Khadem Moghadam Igdelo. . Investigation of cadmium uptake and transfer ability of three ornamental plants for remediation of cadmium contaminated soils. *Iranian Journal of Soil and Water Research* 50: 2453-2464. (In Farsi).
12. Goussia, R., A. Manaab, W. Derbalia, T. Ghnaya, Ch. Abdelly and R. Barbato. 2018. Combined effects of NaCl and Cd^{2+} stress on the photosynthetic apparatus of *Thellungiella salsuginea. BBA – Bioenergetics* 1859: 1274-1287.

13. Gubrelay, U., R. K. Agnihotri, G. Singh, R. Kaur and R. Sharma. 2013. Effect of heavy metal Cd on some physiological and biochemical parameters of barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5: 2743-2751.
14. Guo-sheng, S. H. A. O., M. J. Hassan, Z. H. A. N. G. Xiu-fu and Z. H. A. N. G. Guo-ping. 2004. Effects of cadmium stress on plant growth and antioxidative enzyme system in different rice genotypes. *Chinese Journal of Rice Science* 18: 239.
15. Hayat, S. H., Q. Hayat, M. N. Alyemeni, A. Shafi Wani, J. Pichtel and A. Aqil Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments. *Plant and Behavior* 7: 1456-1466.
16. Heydarpoor, A., S. Esmaielpoor, A. Ashraf and S. khoramdel. 2020. Effect of vermicompost on morphophysiological, biochemical and yield characteristics of summer savory (*Satureja hortensis* L.) under different irrigation regimes. *Journal of Agroecology* 12: 507-522. (In Farsi).
17. Hosseini, S., N. Zare, P. Sheikhzadeh and S. Abootalebi. 2021. The effect of nano-silicone on biochemical characteristics of *Borago officinalis* under the cadmium stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences.* 15 (3): 817-822. (In Farsi).
18. Kamalvan, A., S. Hosseini and R. karamian. 2021. Effects of cadmium stress on growth and physiological responses of fenugreek plant (*Trigonella foenum-graecum* L). *Journal of Plant Physiology and Breeding* 12: 51-65. (In Farsi).
19. Karimi, N., M. Khanahmadi and B. Moradi. 2013. The effects of lead on some physiological parameters of Artichoke. *Journal of Plant Production* 20: 49-62. (In Farsi).
20. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
21. Liu, L., H. Chen, J. Yuan, Y. Wang, B. Weng, P. Liu and G. Li. 2021. Effects of cadmium stress on physiological indexes and fruiting body nutritions of Agaricus brasiliensis. *Scientific Reports* 11: 8653.
22. Madhu Sharma, A., A. Kaur, S. Tyagi and S. K. Upadhyay. 2023. Glutathione peroxidases in plants: innumerable role in abiotic stress tolerance and plant development. *Journal of Plant Growth Regulation* 42: 598-613.
23. Magray, J. A., D. P. Sharma, M. A. Deva and S. A. Thoker. 2023. Phenolics: accumulation and role in plants grown under heavy metal stress. *Plant Phenolics in Abiotic Stress Management* 8 (15): 321-351.
24. Marjani, V., A. Golchin and S. Abdollahi. 2020. Potential of marigold (*Calendula officinalis*), ornamental cabbage (*Brassica oleracea*) and amaranthus (*Amaranthus cockscomb*) for phytoextraction of cadmium from the soil. *Journal of Soil Management and Sustainable Production* 10: 95-113. (In Farsi).
25. Maszyneska, E., E. Fajerska-Hanus, M. Różańska, E. M. Labudda and E. Znojek. 2018. Heavy metal tolerance in contrasting ecotypes of *Alyssum montanum. Ecotoxycology and Environmental safety* 161: 305-317.
26. Mobeini, M., N. Alamzadeh Ansari, V. Abdossi and A. Naseri. 2022. Effects of chemical seed priming on germination and antioxidant enzymes activity of two cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars. *International Journal of Horticultural Science and Technology* 9: 165-175.
27. Muhie, S. H., E. Yildirim, N. Memis and I. Demir. 2020. Vermicompost priming stimulated germination and seedling emergence of onion seeds against abiotic stresses. *Seed Science and Technology* 48: 153-157.
28. Muscolo, A., M. Sidari, U. Anastasi, C. Santonoceto and A. Maggio. 2014. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. *Journal of Plant Interactions* 9: 354-363.
29. Pourghasemian, N., T. Landberg, P. Ehsanzadeh and M. Greger. 2019. Different responses to Cd stress in domesticated and wild safflower (*Carthamus* spp.) .*Ecotoxicology and Environmental Safety* 171: 321-328.
30. Pourghasemian, N., R. Moradi, M. Naghizadeh and T. Landberg. 2020. Mitigating drought stress in sesame by foliar application of salicylic acid beeswax waste and licorice extract .*Agricultural Water Management* 231: 105997.
31. Pourghasemian, N. and R. Moradi. 2021. Alleviating drought stress in sesame seedling by priming and irrigation of beeswax waste and licorice extracts. *Iranian Journal of Seed Science and Research* 8: 45-62. (In Farsi).
32. Rehman, N. U., M. N. Ansari, M. A. Ganaie, H. A. Madkhali, A. S. Saeedan, F. Imam and A. M. Hamad. 2020. Cadmium-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats: protection by roflumilast via NF-kappa B and HO-1 Pathway. *International Journal of Pharmacology* 16: 154-163.
33. Roe, J. H. 1955. The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 212: 335-343
34. Sarvari, S., A. Danai, Kh. Hemti and A. R. Alden Moghaddam. 2021. Metabolic and enzymatic responses of marigold plant (*Calendula officinalis* L.) to spermidine, citric acid and proline foliar application under drought stress after harvest. *Agricultural Science and Technology* 23: 1339-1353. (In Farsi).

35. Soltani, A., A. Aliade, H. Mahfuzi and F. Khialparast. 2011. Effect of short and long terms cold acclimation on biochemical characteristics of spring and winter wheat (*Triricum aestivum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Science* 4: 108-120. (In Farsi).
36. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
37-Wagner, G.J., 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant physiology*, *64*(1), pp.88-93.
38. Yuan, C. Z. and X. R. Wang. 2023. Source apportionment and health risk assessment of heavy metals in soils of old industrial areas—A case study of Shanghai, China. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 20: 2395.
39. Zulfiqar, U., A. Ayub, S. Hussain, E. A. Waraich, M. A. El- Esawi, M. Ishfaq and M. F. Maqsood. 2022. Cadmium toxicity in plants: Recent progress on morpho-physiological effects and remediation strategies. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 1 (10): 48-58.