Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 17, Issue 1, 2025 p: 142-158

OPEN ACCESS

**Research Paper**

# The Effect of Chitosan Priming on Germination and Biochemical Characteristics of Black Seed (*Nigella sativa* L.) under Cadmium Stress

**Ellahe Arab[1], Leila Ahangar[2] and Abbas Biabani[3]**

1- Master's student, Gonbad Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Gorgan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Plant Production, Gonbad Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Gorgan, Iran, (Corresponding author: L.ahangar63@gmail.com)
3- Professor, Department of Plant Production, Gonbad Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gonbad Kavos University, Gorgan, Iran

Received: 18 June, 2024 Revised: 9 September, 2024: Accepted: 29 October, 2024

## Extended Abstract

**Background**: Black seed (*Nigella sativa* L.) from the Ranunculaceae family is one of the natural useful antioxidants, and the oil prepared from its seeds has various medicinal properties, including anti-cancer, anti-microbial, anti-hypertensive, anti-diabetic and increased immunity has been reported. *Nigella sativa*, like other plants, is constantly exposed to abiotic or biotic stresses. The main abiotic stresses that plants are exposed to include extreme temperature, drought, high salinity and heavy metals. Environmental pollution caused by heavy metals is increasing. Among heavy metals, cadmium is one of the most toxic elements for living organisms, which has received much attention due to its increase in the environment in recent decades. This element is toxic to most plants even in very low concentrations, while in concentrations higher than five to ten micrograms per gram of dry leaf weight, it can lead to the death of the plant. The presence of this element in the growth environment of plants causes a lot of poisoning, including disruption of water-plant relations, disruption of chlorophyll biosynthesis and formation of free ions. Therefore, it is necessary to adopt appropriate environmental methods to reduce or eliminate the negative and irreparable effects of this metal in agriculture. Seed priming is known to be an effective method to improve plant performance by increasing plant tolerance to stress. One of the types of priming methods is the use of chemicals such as chitosan. Chitosan is a non-toxic and environmentally adaptive substance that is very important due to its antioxidant activity in dealing with oxidative damage resulting from environmental stress. Therefore, in this study, the effect of chitosan priming on reducing the harmful effects of cadmium on germination and biochemical characteristics of black seed was investigated.

**Methods:** In this study, in order to investigate the effect of chitosan priming on cadmium chloride stress on the germination and biochemical characteristics of *Nigella sativa*, the experiment was carried out as a factorial design based on completely randomized design with 4 replications in sterile petri dishes in the laboratories of Gonbadkavos Agricultural University in 2023. For seed priming with different concentrations of chitosan (0.2, 0.4, 0.6, 1.0%), the seeds were immersed in the desired solutions for 3 hours under dark conditions and after drying, they were placed in Petri dishes on Whatman paper bed. Then 5 ml of solutions prepared with different concentrations of cadmium chloride (control, 1000, 750, 500, 250 µmol) were added to them. Distilled water was used for control treatment. Finally, the samples were placed for 10 days in the germinator in dark conditions with a temperature of 25±1 °C. At the end of the experiment, the characteristics of germination percentage, germination rate, seedling vigor index, root and shoot length were measured. Then the biochemical traits of seedlings such as catalase, peroxidase, phenol, soluble sugar and proline were measured after 14 days. Statistical analysis of data was done using SAS 9.1 and MSTAT-C software.

**Results:** The results of analysis of variance indicated the significant simple effects of priming with chitosan and cadmium stress on all investigated traits. Also, the interaction effects of priming × cadmium stress were also significant for all traits at the 1% level. The comparison of average data showed that with the increase of cadmium concentration, germination rate and percentage, radicle length and seedling vigor index decreased significantly, so that the highest amount of these traits was in the control and 250 µmol cadmium and the lowest amount of these traits was observed at a concentration of 1000 µmol cadmium. The external application of chitosan in the form of priming improved germination traits, root and shoot length and seedling vigor index in 0.2 and 0.4% chitosan treatments compared to the control, while with the increase in the

Copyright ©2025 Arab et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

percentage of chitosan (0.8 and 1 percent) the amount of these traits decreased significantly. The results of the comparison of average traits under the interaction of chitosan ×cadmium showed that seed priming with chitosan was able to reduce the negative effects of cadmium chloride stress on the traits of percentage germination, root and shoot length and seedling vigor index. Thus, the highest amount of these traits was observed in the treatment of 0.2 and 0.4% chitosan and 250 and 500 µmol cadmium stress. Also, the results of the present study showed that increasing the concentration of cadmium chloride causes an increase in the activity of antioxidant enzymes such as catalase and peroxidase and non-enzymatic antioxidants such as proline and phenol. So that peroxidase enzyme at the treatment of 750 µM of cadmium (0.0053 µmol per gram of fresh tissue) with an increase of 178.2% compared to the control and phenol in the treatment of 1000 µM of cadmium (3.2 mg/g of extract) with an increase of 211.7 % compared to the control showed the highest level of activity. Also, the use of seed priming technique with chitosan could significantly increase the content of these proteins in plants under cadmium stress. So that, the highest amount of peroxidase enzyme is observed in the treatment of 500 µM cadmium in the priming treatment with 0.4% chitosan (0.0083 µmol Bergam of fresh tissue) and in the tratment of 750 µM cadmium chloride in the priming treatment 0.2% chitosan (0.0082 µmol Bergam) fresh tissue). That this amount was about 64 and 57.6% more than their controls, respectively.

**Conclusion:** The results of this research showed that cadmium stress leads to a decrease in germination characteristics and weakens the plant's defense system. To deal with these changes and reduce the adverse effects of the produced ROS, the plant increased the activity of antioxidant enzymes, but the adverse effects of cadmium had an inhibitory effect on these changes. Conversely, the use of chitosan in the form of priming prevented the harmful effects of cadmium and increased the activity of antioxidant enzymes and protected the germination process against the toxicity of this heavy metal. Although the application of chitosan up to 0.6% improved these mechanisms, its beneficial effects decreased with the increase in the concentration of this substance. Based on the results of the present study, it can be stated that the application of chitosan caused the activation of some biochemical and physiological mechanisms in the black seed plant under cadmium stress. Therefore, seed priming with chitosan can be suggested as an effective strategy to increase *Nigella sativa* tolerance to cadmium stress.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Catalase, Heavy metal stress, Pretreatment, Proline

**How to Cite This Article:** Arab, E., Ahangar, L., & Biabani, A. (2025). The effect of chitosan priming on germination and biochemical characteristics of black seed (*Nigella sativa* L.) under cadmium stress. *J Crop Breed,* 17(1), 142-158. DOI: 10.61186/jcb.17.1.142

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

**مقاله پژوهشی**

# تاثیر پرایمینگ بذر کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و خصوصیات بیوشیمیایی گیاهچه‌های سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش کادمیوم

الهه عرب[۱]، لیلا آهنگر[۲] و عباس بیابانی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گنبد، دانشگاه گنبدکاووس، گرگان، ایران
۲- استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گنبد، دانشگاه گنبد کاووس، گرگان، ایران، (نویسنده مسوول: L.ahangar63@gmail.com)
۳- استاد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی گنبد، دانشگاه گنبد کاووس، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۹ تاریخ ویرایش:۱۴۰۳/۰۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۸
صفحه: ۱۴۲ تا ۱۵۸

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) از خانواده آلالگان (*Ranunculaceae*)، یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مفید طبیعی به‌شمار می‌رود که برای روغن تهیه شده از بذرهای آن خواص مختلف دارویی از جمله ضد سرطانی، ضد میکروبی، ضد فشارخون، ضد دیابت و محافظ کبد و افزایش ایمنی بدن گزارش شده است. سیاه‌دانه همانند سایر گیاهان دائماً در معرض تنش‌های غیرزیستی و یا زیستی قرار می‌گیرد. عمده‌ترین تنش‌های غیرزیستی که گیاهان در معرض آن قرار دارند شامل دمای شدید، خشک‌سالی، شوری زیاد و فلزات سنگین می‌باشند. آلودگی زیست‌محیطی ناشی از فلزات سنگین رو به افزایش می‌باشد. در بین فلزات سنگین، کادمیوم یکی از سمی‌ترین عناصر برای موجودات زنده است که به‌دلیل افزایش مقدار آن در محیط طی دهه‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این عنصر در غلظت‌های بسیار کم نیز برای اکثر گیاهان سمی است، در حالی‌که در غلظت‌های بالاتر از پنج تا ده میکروگرم بر گرم وزن خشک برگ، می‌تواند منجر به مرگ گیاه شود. وجود این عنصر در محیط رشد گیاهان سبب مسمومیت زیاد از جمله اختلال در روابط آب و گیاه، اختلال در بیوسنتز کلروفیل و تشکیل یون‌های آزاد می‌گردد. لذا اتخاذ روش‌های مناسب زیست محیطی جهت کاهش و یا حذف تاثیرات منفی و غیرقابل جبران این فلز در کشاورزی ضروری است. پرایمینگ بذر یک روش کارامد برای بهبود عملکرد گیاه با افزایش تحمل گیاه به تنش شناخته شده است. یکی از انواع روش‌های پرایمینگ استفاده از مواد شیمیای مانند کیتوزان است. کیتوزان یک ماده غیر سمی و سازگار با محیط زیست است که به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی در برخورد با آسیب‌های اکسیداتیو حاصل از تنش محیطی بسیار حائز اهمیت است. بنابراین در این پژوهش به بررسی تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر کاهش اثرات مخرب کادمیوم بر خصوصیات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی سیاه‌دانه پرداخته شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه به‌منظور بررسی تاثیر پرایمینگ کیتوزان در تنش کلریدکادمیوم بر خصوصیات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی سیاه‌دانه، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در پتری‌های استریل در آزمایشگاه‌های دانشگاه کشاورزی شهر گنبدکاووس در سال۱۴۰۲ اجرا شد. برای پرایمینگ بذور با غلظت‌های مختلف کیتوزان (۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، ۱ درصد)، بذرها به‌مدت ۳ ساعت تحت شرایط تاریکی درون محلول‌های مورد نظر غوطه‌ور شدند و پس از خشک شدن بر روی بستر کاغذ واتمن در پتری‌ها قرار داده شدند سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول‌های آماده شده با غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم (شاهد، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰میکرو مولار) به آن‌ها اضافه گردید. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. در نهایت جوانه‌زنی بذرها به‌مدت ۱۰ روز در شرایط تاریکی در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. در انتهای آزمایش صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه گیاهچه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شد. سپس صفات بیوشیمیایی مانند آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، فنل، قند محلول و پرولین بعد از ۱۴ روز اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و MSTAT-C انجام شد.

**یافته‌ها:** نتایج تجزیه واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثرات ساده پرایمینگ با کیتوزان و تنش کادمیوم بر تمامی صفات مورد بررسی بود. همچنین اثرات متقابل پرایمنگ× تنش کادمیوم نیز برای تمامی صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و شاخص بنیه بذر به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان این صفات در سطح شاهد و ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم و کمترین میزان این صفات در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مشاهده شد. کاربرد کیتوزان به صورت پرایمینگ سبب بهبود صفات جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و شاخص بنیه بذر در تیمارهای ۰/۲ و ۰/۴ درصدی کیتوزان نسبت به شاهد شد در حالی‌که با افزایش درصد کیتوزان (۰/۸ و ۱ درصد) میزان این صفات به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج مقایسه میانگین صفات تحت برهم‌کنش پرایمینگ کیتوزان و کادمیوم نشان داد که به‌کارگیری پرایمینگ بذر با کیتوزان توانست تا حدودی اثرات منفی تنش کلریدکادمیوم بر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه را تقلیل دهد. به‌طوری‌که بیشترین میزان این صفات در تیمار ۰/۲ و ۰/۴درصد کیتوزان و تنش ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار مولار کادمیوم مشاهده شد. همچنین نتایج مطالعات حاضر نشان داد که افزایش غلظت کلریدکادمیوم سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز، پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند پرولین و فنل می‌گردد. به‌طوری‌که آنزیم پراکسیداز در سطح ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۰/۰۰۵۳ میکرومول برگرم بافت تازه) با افزایش ۱۷۸/۲ درصدی نسبت به شاهد و فنل در تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار آلودگی با کلریدکادمیوم (۳/۲ میلی گرم بر گرم عصاره) با افزایش ۲۱۱/۷ درصدی نسبت به شاهد بیشترین سطح فعالیت خود را نشان دادند. استفاده از تکنیک پرایمینگ بذر با کیتوزان، توانست میزان محتوی این پروتئین‌ها را به‌طور قابل توجهی در گیاهان تحت تنش کادمیوم افزایش دهد. به‌طوری‌که بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز در شرایط ۵۰۰ میکرو مولار کلریدکادمیوم در تیمار پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۰/۰۰۸۳ میکرومول برگرم بافت تازه) و در شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در تیمار پرایمینگ ۰/۲ درصد کیتوزان (۰/۰۰۸۲ میکرومول برگرم بافت تازه) دیده شد که این میزان به ترتیب حدود ۶۴ و ۵۷/۶ درصد بیشتر از شاهدشان بود.

**نتیجه گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد که تنش کادمیوم منجر به کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی شده و سیستم دفاعی گیاه را تضعیف می‌کند. گیاه برای مقابله با این تغییرات و کاهش اثرات سوء حاصل از ROSهای تولیدشده، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داد اما اثرات نامطلوب کادمیوم تاثیری بازدارنده بر این تغییرات داشت. با این‌حال کاربرد کیتوزان به شکل پرایمینگ از اثرات مضر کادمیوم ممانعت نموده و منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌کسیدان‌شده و فرآیند جوانه‌زنی را در برابر سمیت این فلز سنگین محافظت کرد. اگرچه کاربرد تا ۰/۶ درصد کیتوزان بهبود دهنده این مکانیزم‌ها بود ولی با افزایش غلظت این ماده از اثرات سودمند آن کاسته شد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان این‌گونه بیان نمود که کاربرد کیتوزان سبب فعال شدن برخی مکانیسم‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه سیاه‌دانه در رابطه با تنش گردید. لذا می‌توان استفاده از پرایمینگ بذر با کیتوزان را به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش تحمل سیاه‌دانه به تنش کادمیوم پیشنهاد نمود.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم‌های آنتی کسیدانی، پرولین، پیش‌تیمار، تنش فلزات سنگین، کاتالاز

## مقدمه

سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa* و از خانواده *Ranunculaceae* که بذور آن به‌نام دانه‌سیاه شناخته می‌شود گیاهی است دو لپه، علفی، یک‌ساله و متعلق به راسته آلالگان می‌باشد (Ziaee *et al.*, 2012). در میان داروهای سنتی، سیاه‌دانه یک گیاه دارویی پرمصرف در سراسر جهان است که همانند سایر گیاهان دائماً در معرض تنش‌های غیرزیستی و یا زیستی قرار می‌گیرد. این تنش‌ها با تسریع در تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های نیتروژن

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

(RNS) باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش کیفیت در گیاه دارویی می‌شوند (Huang *et al*., 2012, Schieber & Chandel 2014). عمده‌ترین تنش‌های غیرزیستی که گیاهان در معرض آن قرار دارند شامل دمای شدید، خشک‌سالی، شوری زیاد و فلزات سنگین می‌باشند (Gornik *et al*., 2008). در بین فلزات سنگین، فلز کادمیوم به‌دلیل تحرک و پویایی زیاد در خاک و جذب توسط گیاه، دارای اهمیت خاصی می‌باشد (Khatamipour *et al*., 2011; John *et al*., 2009). این فلز در محیط در دسترس است اما برای رشد گیاه ضروری نیست. حد مجاز کادمیوم در خاک کشاورزی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Balestrasse *et al*., 2004). مقادیر بالای کادمیوم مشاهده شده در بسیاری از مزارع کشاورزی ناشی از استفاده طولانی مدت از کودهای فسفاته و آبیاری از طریق فاضلاب است. لذا به‌دلیل افزایش مقدار کادمیوم در محیط طی دهه‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌است. کادمیوم از خطرناک‌ترین فلزات سنگین برای گیاهان محسوب می‌شود (Kanafi Lesko Kelayeh *et al*., 2021; Choudhury & Panda, 2004)، که در غلظت‌های بسیار کم نیز برای بسیاری از گیاهان سمی است، در حالی‌که در غلظت‌های بالاتر از پنج تا ده میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ، می‌تواند منجر به مرگ گیاه شود (White & Brown., 2010). سمیت کادمیوم فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه را تغییر می‌دهد که شامل مهار و ناهنجاری در بسیاری از گونه‌های گیاهی است. پس از مواجهه طولانی مدت گیاه با کادمیوم، ریشه‌ها موسیلاژین، قهوه‌ای تجزیه می‌شوند و تعداد ساقه‌ها و افزایش طول ریشه کاهش می‌یابد. کادمیوم از تشکیل ریشه جانبی جلوگیری می‌کند و باعث می‌شود که ریشه اصلی قهوه‌ای، سفت و پیچ‌خورده شود (Spanany *et al*., 2016). این فلز همچنین می‌تواند ظرفیت فتوسنتزی را کاهش دهد که منجر به کندی رشد گیاه و استرس اکسیداتیو شود و بر متابولیسم ثانویه تأثیر بگذارد. از سویی کادمیوم با مهار فعالیت نیترات ردوکتاز در اندام هوایی، جذب نیترات و انتقال آن از ریشه به اندام هوایی را کاهش می‌دهد (Basra *et al*., 2006). سمیت کادمیوم می‌تواند بر نفوذپذیری غشای پلاسما تأثیر بگذارد و باعث کاهش محتوای آب شود. مطالعات نشان داده شده‌است که تیمارهای کادمیوم فعالیت ATPase بخش غشای پلاسمایی ریشه گندم و آفتابگردان را کاهش می‌دهد (Bermudes *et al*., 2010)، در حالی‌که در سیر (*Allium sativum*) تجمع کادمیوم رشد شاخساره را کاهش داده و در نهایت در ذرت (*Zea mays*) باعث کاهش رشد ساقه و مهار رشد ریشه شد (Aghighi Shahverdi *et al*., 2017).

جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه گیاهچه از مراحل مهم رشد گیاه و حساس‌ترین مرحله گیاهان به تغییرات محیط اطراف آن‌هاست (Liu *et al*., 2011). تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی باعث ایجاد چندین علامت سمیت می‌شود، اولین علامت تجمع کادمیوم کاهش رشد و نمو در جوانه‌زنی گیاهچه می‌باشد (Perveen *et al*., 2016). کادمیوم با توجه به میزان غلظت می‌تواند سبب ممانعت از جذب آب در محور جنینی و در نتیجه کاهش جوانه‌زنی شود (Vijayaragavan *et al*., 2011). اثر کادمیوم بر جوانه‌زنی گیاهان به عوامل مختلفی از جمله نوع گیاه، غلظت کادمیوم، مدت زمان تعرض و شرایط زیستی بستگی دارد (Rahoui *et al*., 2010). کلالی و همکاران (Kalai *et al*., 2014) بیان کردند که کاهش جوانه‌زنی به‌دلیل کاهش جذب آب نیست، بلکه به‌دلیل کاهش انتقال مواد اندوخته‌ای از اندوسپرم به جنین است. مطالعات نشان داده کادمیوم و روی از نظرشیمیایی بسیار مشابه هستند، بنابراین کادمیوم می‌تواند جایگزین روی در انجام وظایف متابولیسمی شود. علت اصلی سمیت میل ترکیبی شدید آن با گروه‌های تیول در آنزیم‌های پروتئین‌ساز است که به‌صورت طبیعی همراه با عنصر روی یافت می‌شود (Rodriguez *et al*., 2008).

پرایمینگ بذر یکی از روش‌های برجسته‌ای است که منجر به جوانه‌زنی سریع و یکنواخت، کیفیت بذر و استقرار گیاهچه شده و منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود ( Abid *et al*., 2016). پرایمینگ بذر همچنین به‌عنوان یک روش بالقوه برای بهبود عملکرد گیاه با افزایش تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی و زیستی شناخته شده‌است (Khalaki *et al*., 2020). حتی پرایمینگ بذر می‌تواند جوانه‌زنی بذرهای ضعیف و آسیب‌دیده در شرایط نامساعد محیطی را بهبود ببخشد (Dragicevic *et al*., 2013). در مطالعات مختلف اثر مثبت پرایمینگ با کیتوزان بر جوانه‌زنی و پارامترهای رشدی گیاهان مختلف گزارش شده است (Spanany & Fallah, 2016). کیتوزان یک ماده غیرسمی، قابل تجزیه و سازگار با محیط‌زیست و همچنین یک پلی‌ساکارید گلوکوزامین ساخته شده از کیتین است. کیتوزان به‌دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برخورد با آسیب‌های اکسیداتیو حاصل از تنش محیطی بسیار حائز اهمیت است و جهت مقابله گیاه با تنش‌های محیطی، موجب فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند کاتالاز در شرایط تنش می‌شود (Rahneshan *et al*., 2019; Xiaochen *et al*., 2020). پرایمینگ با کیتوزان، مقاومت گیاهان به برخی از بیماری‌های گیاهی را افزایش می‌دهد. همچنین سرعت و درصد جوانه‌زنی، میزان فعالیت لیپاز، سطوح اسیدجیبرلیک و ایندول‌استیک‌اسید، دانه و کیفیت محصول را بهبود می‌بخشد. همچنین باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر می‌گردد (Zhou *et al*. 2002; Shao *et al*. 2005). پژوهش‌های انجام‌شده نشان دادند که پرایمینگ کیتوزان اثر تقویتی مطلوبی بر جوانه‌زنی بذر *Platycodon grandiflorus* داشت و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و همچنین طول لپه و ریشه‌چه را افزایش داد. علاوه‌بر این، پرایمینگ کیتوزان به‌طور موثری رشد برگ، ارتفاع، قطر ساقه و وزن خشک را افزایش داد و به‌طور قابل قابل توجهی کلروفیل، سرعت فتوسنتز، سرعت تعرق و راندمان مصرف آب را بهبود بخشید (Liu *et al*., 2022). همچنین پرایمینگ با کیتوزان با افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز سبب مقاومت ذرت به تنش خشکی گردید (Behboudi *et al*., 2018).

با توجه به افزایش آلودگی خاک‌های زراعی به عناصر سنگین از جمله کادمیوم، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پیش‌تیمار بذر گیاه سیاه‌دانه با کیتوزان به‌منظور کاهش اثرات نامطلوب آلودگی به کادمیوم، به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی و بررسی تغییرات بیوشیمیایی آن بود.

## مواد و روش‌ها

برای بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی سیاه‌دانه، تحقیقی در محیط آزمایشگاه و شرایط درون شیشه‌ای، در دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۴۰۲ اجرا شد. بذر گیاه سیاه‌دانه (*Nigella sativa*) ازشرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در پتری‌های استریل اجرا شد. عوامل آزمایش شامل ۶ سطح کیتوزان (صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ ، ۰/۸ و ۱درصد) و ۵ سطح کادمیوم (صفر،۲۵۰،۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰ میلی‌مولار) بودند. مقدار پودر مورد نیاز از کلرید کادمیوم (Tetrachem, cas No, 35658-65-2) و کیتوزان (Sigma Alderich/ MMW) شرکت (Steinheim, Germany,

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

970-7329-49) با ترازوی ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری و سپس با آب مقطر به حجم مورد نیاز تحقیق رسانیده شد. در این پژوهش قبل از اعمال پرایمینگ ابتدا بذور با آب معمولی شست‌شوی سطحی شده، سپس به‌مدت ۱۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند. پس از سه مرتبه شست و شو با آب مقطر به‌مدت۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند و در نهایت چندین مرتبه با آب مقطر شست و شو داده شدند (Madadi *et al*., 2016). برای پرایمینگ بذور با غلظت‌های مختلف کیتوزان (حل‌شده در اسیداستیک ۰/۱ درصد و آب مقطر)، بذرها به‌مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی درون محلول‌های موردنظر غوطه‌ور شدند (Naderi *et al*,. 2014). سپس بذور در زیر هود خشک شده و بر روی بستر کاغذ واتمن شماره یک با قطر ۹ سانتی‌متر در پتری‌های استریل۵۰ عدد بذر پرایم‌شده برای هر تیمار قرار داده‌شدند و مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول‌های آماده شده با غلظت‌های مختلف کلرید کادمیوم به آن‌ها اضافه گردید. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. در نهایت نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ روز در شرایط تاریکی و در دمای متناوب ۲۵–۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد در دستگاه ژرمیناتور قرار داده‌شدند. ملاک جوانه‌زنی بر اساس خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه‌های سالم به‌اندازه ۲ میلی‌متر می‌باشد (Miller & Chapman, 1987). در انتهای آزمایش صفات درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱، سرعت جوانه‌زنی از رابطه ۲، شاخص بنیه گیاهچه از رابطه ۳، محاسبه شدند (Pagter *et al*., 2009). همچنین ۵ عدد از گیاهچه‌ها از هر تیمار به‌صورت تصادفی انتخاب و طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه بر حسب میلی‌متر و وزن تر گیاهچه بر حسب گرم اندازه‌گیری شد (Akramian *et al*,. 2007).

رابطه ۱: درصد جوانه‌زنی (GP) GP=(n/N)×100

n: مجموع کل بذرهای جوانه‌زده در پایان آزمایش

N: کل بذرهای کاشته‌شده

رابطه ۲: سرعت جوانه‌زنی (GR) (بذر در روز) GR=ΣNi/ Ti

Ni: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز ni، Ti: تعداد روزهای پس از جوانه‌زنی

رابطه ۳: شاخص بنیه بذر ۱۰۰/ (طول گیاهچه ×GP )= شاخص بنیه گیاهچه

Gp: درصد جوانه‌زنی

تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها بعد از ۱۴ روز اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانتی حدود ۰/۵ گرم بافت اندام‌هوایی گیاهی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد سپس با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) همگن گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی استفاده گردید.

## سنجش فعالیت آنزیم (POX)

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) بر اساس اکسیداسیون گایاکول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV-120-02 به‌مدت ۲ دقیقه در طول موج ۴۳۶ نانومتر خوانده شد. مخلوط واکنش شامل ۲۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۱۸ میلی‌مولار،۱۰۰ میکرولیتر از $H_2O_2$ و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. از محلول واکنش بدون عصاره جهت صفر کردن دستگاه استفاده شد (Chance & maehly, 1955).

سنجش میزان فعالیت آنزیمی بر اساس میزان تغییرات جذب و ضریب خاموشی آنزیم پراکسیداز ( ۲۶/۶ ) بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه گردید (رابطه ۴).

$$POD = \frac{\Delta A240 \times 1 \times Vt \times df}{\varepsilon \times l \times t \times Vs}$$

ΔA470 تفاوت میزان جذب مخلوط واکنش در زمان شروع و پایان واکنش

1 ضریب پراکسیدهیدروژن در معادله که معادل ۴ می‌باشد.

| | |
|---|---|
| Vt | حجم مخلوط واکنش |
| df | فاکتور رقیق‌کننده |
| T | مدت زمان واکنش |
| $V_s$ | حجم نمونه |
| ε | ضریب خاموشی |
| l | طول مسیر عبور نور از مخلوط واکنش |

## سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) مقدار ۲۰میکرولیتر از عصاره آنزیمی به‌همراه ۴۰۰ میکرولیتر از محلول بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار و ۳۰۰ میکرولیتر H2O2 مخلوط و در طول موج ۲۴۰ نانومتر سرعت حذف H2O2 به‌مدت ۲ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (Chance & maehly, 1955). میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی کاتالاز ( ۳۹/۴) بر اساس سرعت مصرف هیدروژن‌پراکسید در دقیقه بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه گردید.

## اندازه‌گیری میزان قند محلول

اندازه‌گیری میزان قند محلول با استفاده از روش (Gengmao *et al*., 2014) انجام گرفت. بدین‌منظور ۰/۰۵ گرم بافت سبز گیاه به‌همراه ۱۰ سی‌سی الکل اتانول ۹۵٪ در لوله‌های آزمایش دربسته قرار داده و به‌مدت ۱ ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. سپس به ۱ سی‌سی از نمونه حاصل، ۱ سی‌سی فنول ۰/۵ درصد و ۵ سی‌سی اسیدسولفوریک ۹۸٪ اضافه‌شد. منحنی جذب تغییرات با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۳ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان قند محلول استخراجی بر اساس میزان تغییرات جذب در میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر محاسبه شد.

## اندازه‌گیری فنول کل

برای اندازه‌گیری فنول کل میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر از حلال‌های اتانول و متانول ۸۰ درصد (حجمی‌حجمی) با ۱۰ گرم از پودر خشک گیاه مخلوط و در انکوباتور شیکردار با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. بعد از طی ۲۴ ساعت عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شدند. سپس مقدار ترکیبات فنلی کل با روش فولین‌سیوکالتو اندازه‌گیری شد. در این روش میزان ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره (قبل از مرحله تغلیظ و خشک نمودن با فریز درایر) با ۱/۱۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد و بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات‌سدیم (۲۰ درصد) به آن‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده‌شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره با استفاده از معادله به‌دست‌آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره محاسبه شد (Arabshahi-Delouee &Urooj,2007).

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

**اندازه‌گیری پرولین**

اندازه‌گیری پرولین بر اساس روش (Bates *et al*., 1973) انجام گرفت. بدین‌منظور مقدار ۰/۰۵ گرم برگ تازه همراه با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک ۳درصد در یک هاون چینی به‌مدت ۳ دقیقه سائیده‌شد. محلول هموژنیزه شده توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۲ میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک در یک لوله‌ی آزمایش ریخته شد و برای مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شد. سپس به محلول واکنش سرد شده در لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و به‌مدت ۱۵ تا۲۰ ثانیه به‌شدت تکان داده‌شد. در نهایت جذب نوری محلول‌رویی واکنش از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و غلظت اسیدآمینه پرولین نمونه با استفاده از یک منحنی استاندارد پرولین خالص بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و MSTAT-C انجام‌شد و مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون LSD در سطح ۵٪ محاسبه‌شد. همچنین برای رسم نمودارهای موردنیاز از نرم‌افزار Excell استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کادمیوم، پرایمینگ با کیتوزان و اثر متقابل پرایمینگ × تنش کادمیوم برای صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر گیاهچه، محتوی آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، محتوی پرولین، قند محلول و فنول در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

**درصد جوانه‌زنی**

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین درصد جوانه‌زنی در سطح شاهد (۴۱/۸ درصد) و ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۴۱/۸ درصد) و کمترین میزان این صفت در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۲/۴ درصد) مشاهده شد. این میزان کاهش حدود ۹۶/۸ درصد کمتر از شاهد بود (شکل ۱). پرایمینگ سبب بهبود ۱۰/۵، ۱۴/۵ و ۴/۵ درصدی این صفت به‌ترتیب در تیمارهای ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶ درصدی کیتوزان نسبت به شاهد شد ولی این افزایش تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. از سویی با افزایش غلظت کیتوزان میزان جوانه‌زنی کاهش یافت به‌طوری‌که در غلظت یک درصد کیتوزان، میزان درصد جوانه‌زنی حدود ۷۶ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. نتایج مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تحت برهم‌کنش پرایمینگ کیتوزان و کادمیوم نشان داد که بیشترین میزان این صفت در شرایط ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۴۵/۷ درصد) و در شرایط ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۲ درصد کیتوزان (۴۴/۳ درصد) و در شرایط ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۳۳/۲ درصد) بود.

**سرعت جوانه‌زنی**

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، افزایش غلظت کادمیوم سرعت جوانه‌زنی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. تیمار شاهد با ۵۷/۸ درصد بیشترین و تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیم با ۱۹/۵ درصد، کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشتند (شکل ۲). پرایمینگ کیتوزان در سطح ۰/۲ درصد با میزان ۶۳ درصد سبب بهبود ۹ درصدی صفت سرعت جوانه‌زنی گردید ولی با افزایش غلظت کیتوزان سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت به‌طوری‌که در غلظت یک درصد کیتوزان میزان این صفت حدود ۴۶/۸ درصد کاهش یافت. نتایج اثرمتقابل نشان داد که پرایمینگ با کیتوزان سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی گردید به‌طوری‌که غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی در تمام غلظت‌های آلودگی با کلریدکادمیوم شد. همچنین در پرایمینگ ۰/۸ درصد کیتوزان و آلودگی ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۴۴/۴ درصد) مشاهده شد که این میزان ۴۵/۶ درصد بیشتر از شاهد (بدون پرایمینگ) بود. بعد آن بیشترین سرعت جوانه‌زنی در پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان و آلودگی ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم و در پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان و آلودگی ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم دیده شد. از سویی افزایش سطح کیتوزان و کادمیوم سبب روند کاهشی سرعت جوانه‌زنی شد. به‌طوری‌که کمترین سرعت جوانه‌زنی در پرایمینگ یک درصد کیتوزان و آلودگی ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم دیده شد.

جوانه‌زنی بذر از مراحل پیچیده و اولیه رشد گیاه می‌باشد که از طریق اثراتی که روی استقرار گیاهچه دارد، عملکرد را بهبود می‌بخشد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه تنش کادمیوم سبب کاهش معنی‌دار سرعت و درصد جوانه‌زنی در سیاه‌دانه شد. تجمع کادمیوم در بافت‌های گیاهی رشد را به تعویق می‌اندازد و باعث ایجاد چندین علامت سمیت می‌شود. اولین علامت تجمع کادمیوم کاهش رشد و نمو است (Menon *et al*., 2016). این اثر در سطوح مختلف مانند جوانه‌زنی و رشد ریشه و اندام‌هوایی مشاهده می‌شود. بررسی‌ها نشان داد که کادمیوم جوانه‌زنی در گندم را ۳۱ درصد در غلظت‌های ۰/۰۳ تا ۴/۸ میلی‌مولار (Guilherme *et al*., 2015) و در جو حدود ۲۳درصد در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کادمیوم (Kalai *et al*., 2014) کاهش داد. مطالعات نشان داد که اثر بازدارندگی کادمیوم بر جوانه‌زنی و رشد بذر عمدتاً به‌دلیل کاهش جذب آب است که مانع رشد جنین بذر می‌شود (Haider *et al*., 2021). علاوه‌بر این، غیرفعال شدن تجزیه نشاسته در آندوسپرم، منجر به اختلال در انتقال قندهای محلول به محور جنینی بذر می‌شود و در نهایت کمبود مواد مغذی را در جنین تشدید می‌کند (Rahoui *et al*., 2015). همچنین گزارش‌هایی مبنی‌بر کاهش فعالیت آلفاآمیلاز در نتیجه کاهش انتشار نشاسته از لپه‌ها تحت تأثیر تنش کادمیوم وجود دارد (Kalai *et al*., 2016).

مطالعات نشان داد که با استفاده از تیمارهای افزایش‌دهنده قدرت بذر به‌صورت پرایمینگ می‌توان به جوانه‌زنی سریع و یکنواخت و استقرار قوی گیاه دست پیداکرد (Saadat *et al*., 2022). نتایج مطالعه حاضر نیز حاکی از بهبود سرعت و درصد جوانه‌زنی سیاه‌دانه تحت پرایمینگ کیتوزان بود. همچنین پرایمینگ ممکن است در شرایط تنش مانند فلزات سنگین منجربه افزایش عملکرد جوانه‌زنی و سبز شدن بذر شود (Sedghi *et al*., 2010). علت افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی طی پرایمینگ تحت شرایط تنش، افزایش در فعالیت‌های تنفسی، افزایش سنتز پروتئین در جنین، تولید ATP، تحریک فعالیت RNA و پروتئین‌سازی و افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در بذرهای پیش‌تیمار شده، بیان شده‌است (Saadat *et al*., 2022). مطالعات اسپندی و فلاح (Spanany & Fallah, 2016) در گیاه شوید و نوری و همکاران (Noori *et al*., 2022) در گیاه زیره نشان داد که پرایمینگ بذر با کیتوزان تحت شرایط تنش کادمیوم، تاثیر مثبت و بهبود دهنده‌ای بر سرعت و درصد جوانه‌زنی، داشته‌است. این محققان گزارش کردند پرایمینگ کیتوزان می‌تواند سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر گردد که این آنزیم‌ها، فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه‌زنی

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

کاهش داده در نتیجه باعث افزایش جوانه‌زنی می‌شوند که تایید کننده نتایج این مطالعه می‌باشد.

**شاخص بنیه گیاهچه**

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت آلودگی با کلریدکادمیوم شاخص بنیه گیاهچه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد به‌طوری‌که کمترین میزان این صفت در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۵/۳۶ درصد) مشاهده شد که بیانگر کاهش ۹۴/۸ درصدی شاخص بنیه گیاهچه نسبت به شاهد بود (شکل ۳). تیمار پرایمینگ با کیتوزان در سطوح ۰/۲ و ۰/۴ درصد سبب بهبود شاخص بنیه گیاهچه گردید ولی تفاوت معنی‌داری با شاهد دیده نشد. در حالی‌که افزایش سطح کیتوزان از ۰/۶ درصد سبب کاهش معنی‌دار شاخص بنیه گیاهچه شد. به‌طوری‌که پرایمینگ یک درصد کیتوزان با میزان ۱۷/۶ درصد سبب کاهش ۸۲/۷ درصدی این صفت نسبت به شاهد شد. نتایج بررسی اثر متقابل کادمیوم کیتوزان نشان داد که بیشترین شاخص بنیه گیاهچه مربوط به شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم و پرایمینگ ۰/۴ و ۰/۲ درصد کیتوزان (۲۹/۹ درصد) و در شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم و پرایمینگ ۰/۶ درصد کیتوزان (۲۶/۴ درصد) بود.

شاخص بنیه بذر از مهم‌ترین جنبه‌های کیفیت بذر در گیاه بوده و نشان دهنده تداوم جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های قوی و سالم است. افزایش غلظت کادمیوم سبب کاهش شاخص بنیه گیاهچه در گندم (Zaari Jabri *et al*., 2024) و سویا (Liu *et al*., 2011) شده‌است. به‌طورکلی تنش کادمیوم بر شاخص بنیه گیاهچه تاثیر منفی می‌گذارد که بر اساس تحقیقات انجام‌شده این اثرات کاهشی نامطلوب را می‌توان به تجمع کادمیوم در سلول و اثرات بازدارندگی آن بر جذب و جابه‌جایی آب و مواد مغذی، اختلال در فعالیت‌های آنزیمی، اختلال در تنظیم هورمونی، اختلال و ممانعت در فرآیند تنفس و فتوسنتز، طویل شدن نسبت داد (Radha *et al*., 2010).

نتایج مطالعه انجام شده نشان داد که پرایمینگ بذر با کیتوزان سبب بهبود شاخص بنیه گیاهچه در سیاه‌دانه شده‌است که با نتایج برخی محققین دیگر مبنی بر بهبود این صفت در ذرت تحت تنش اسمزی (Kakar *et al*., 2023) و گل گاوزبان تحت تنش کادمیوم (Sheikhzadeh, 2020) مطابقت داشت. علت افزایش این صفت تحت پرایمینگ ممکن است به‌دلیل شروع رویدادهای متابولیکی در دانه‌های پرایم‌شده مانند حرکت ذخایر غذایی، فعالیت و سنتز مجدد بعضی آنزیم‌ها، شروع سنتز مجدد RNA و DNA باشد. دلیل احتمالی دیگر رشد سریع جنین به‌دنبال برطرف شدن موانع جوانه‌زنی پس از پرایمینگ باشد (Basra *et al*., 2003).

**طول ساقه‌چه**

با افزایش غلظت کادمیوم، طول ساقه‌چه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان این صفت در شاهد (۴۰/۲۲ میلی‌متر) و کمترین میزان صفت در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۶/۴ میلی‌متر) مشاهده شد که سبب کاهش ۸۴ درصدی طول ساقه‌چه شد (شکل ۴). افزایش غلظت کیتوزان در پرایمینگ سبب روند کاهشی طول ساقه‌چه شد ولی سطوح ۰/۲ درصد با میزان ۳۹/۶ میلی‌متر و ۰/۴ درصد با میزان ۳۶/۴ میلی‌متر تفاوت معنی‌داری را با شاهد نشان ندادند. در غلظت یک درصد کیتوزان، طول ساقه‌چه با میزان ۱۰/۸ میلی‌متر کاهش ۷۳ درصدی را نسبت به شاهد نشان داد. نتایج بررسی طول ساقه‌چه نشان داد که اثر متقابل کیتوزان و کادمیوم اگرچه معنی‌دار بود ولی کیتوزان نقشی در بهبود طول ساقه‌چه تحت تنش کادمیوم ایفا نکرد. به‌طوری‌که طول ساقه‌چه در تمام تیمارهای کلریدکادمیوم کیتوزان کمتر از تیمار شاهدشان بود و کمترین میزان صفت در تیمار پرایمینگ یک درصد و آلودگی ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۱/۵ میلی‌متر) دیده شد.

**طول ریشه‌چه**

نتایج مطالعات بیانگر این بود که طول ریشه‌چه به‌میزان زیادی تحت تاثیر پرایمینگ با کیتوزان قرار گرفته است، به‌طوری‌که پرایمینگ کیتوزان در سطوح ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد به‌ترتیب سبب افزایش ۱۰/۵، ۱۴/۵ و ۵ درصدی طول ریشه‌چه نسبت به شاهد (عدم پرایمینگ) گردید، ولی با افزایش غلظت کیتوزان طول ریشه‌چه کاهش یافت به‌طوری‌که غلظت یک درصد کیتوزان با میزان ۱۵/۰۲ میلی‌متر سبب کاهش ۷۶ درصدی این صفت شد (شکل ۵). از طرفی حضور کادمیوم در بستر کشت بذور سبب کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه در سیاه‌دانه شد به‌طوری‌که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌مولار کادمیوم با میزان ۲/۴ میلی‌متر و غلظت ۷۵۰ با میزان ۱۶/۷ میلی‌متر بیشترین کاهش نسبت به شاهد (عدم آلودگی) مشاهده شد. اثرات متقابل بین پرایمینگ و تنش به‌لحاظ این صفت بسیار معنی‌دار بود و تکنیک پیش‌تیمار با کیتوزان نقش مهمی در کاهش اثرات سوء تنش کلریدکادمیوم داشت. در تیمار ۰/۴ درصد کیتوزان و تنش ۲۵۰ میکرومولار کادمیوم بیشترین طول ریشه‌چه (۴۵/۸ میلی‌متر) مشاهده شد که این میزان ۹/۶ درصد بیشتر از شاهد (بدون پرایمینگ) بود. سپس بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار ۰/۲ درصد کیتوزان و تنش ۲۵۰ میکرو مولار کادمیوم با میزان ۴۴/۳ میلی‌متر و تیمار ۰/۴ درصد کیتوزان و تنش ۵۰۰ میکرومولار مولار کادمیوم با میزان ۳۳/۴ میلی‌متر مشاهده شد.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

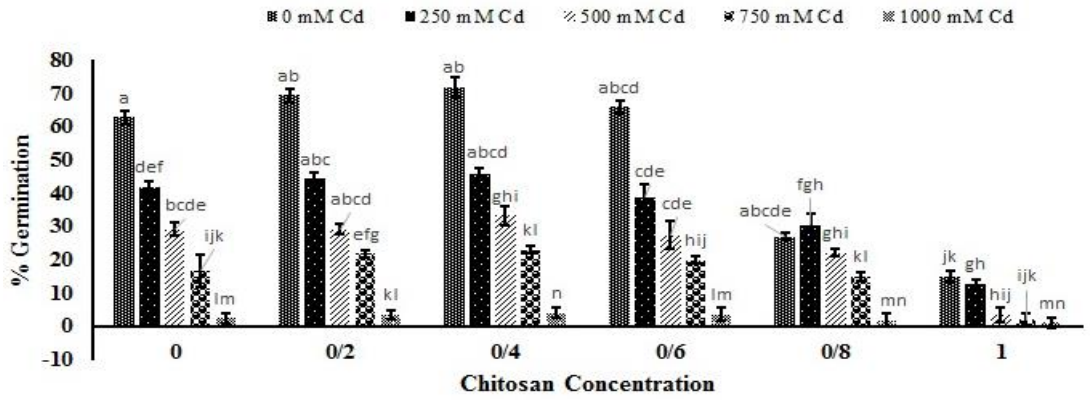
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ سطوح کیتوزان و کادمیوم بر صفات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی سیاه‌دانه

Table 1. Analysis of variance of effect of chitosan priming and cadmium stress on germination and biochemical characteristics Black seed

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | درصد جوانه‌زنی % Germination | سرعت جوانه‌زنی Germination Rate | شاخص بنیه Seed Germination Index | طول ریشه‌چه Root Length | طول ساقه‌چه Shoot Length | کاتالاز Catalase | پراکسیداز Peroxidase | قند محلول Soluble Sugar | پرولین Prolin | فنول Phenol |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کیتوزان Chitosan | 5 | ۹.۳۱** | ۱۲۰۹.۵۶** | ۶۵.۵۴** | ۵۷۲.۹۲** | ۴۵۶.۵۱** | ۱۰۲.۳۹** | ۲۶۹.۸۶** | ۱۰.۳۲** | ۴۲.۱۴** | ۰.۷۶** |
| کادمیوم Cadmium | 4 | ۱۲.۵۴** | ۱۹۱۷.۲۴** | ۱۷۳۳.۲۷** | ۱۹۷۵.۳۸** | ۹۷۱.۴۱** | ۲۶.۱۱** | ۵۶۵.۰۳** | ۷.۶۱** | ۶۲.۶۱** | ۳.۲۸* |
| کیتوزان × کادمیوم Ch*Cd | 20 | ۱۴.۸۷** | ۵۱.۳۷** | ۷۱.۹۱** | ۷۵.۰۳** | ۴۱.۲۹** | ۵۵.۵۹** | ۷۵.۴۱** | ۷.۵۷** | ۶۳.۸۲** | ۲.۵۹** |
| خطا Error | 90 | 9.16 | 1.32 | 9.77 | 4.27 | 2.02 | 4.51 | 8.04 | 0.009 | 45.58 | 2.04 |
| CV | | 5.44 | 6.2 | 6.2 | 9.44 | 25 | 7.7 | 11.1 | 9.3 | 9.1 | 9.3 |

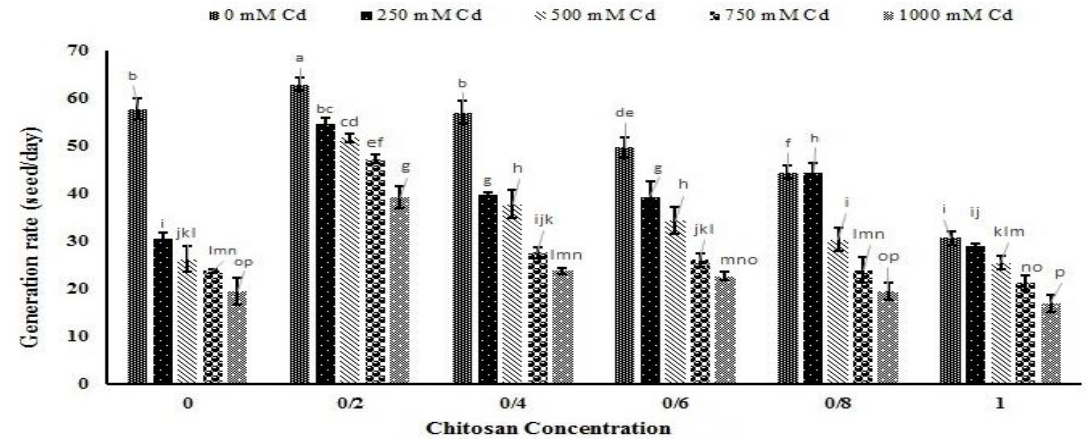
* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد است

* and **: significant at the 5 and 1% probability level, respectively




شکل ۱- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر شاخص درصد جوانه‌زنی گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 1. The effect of chitosan priming on germination percentage traits under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

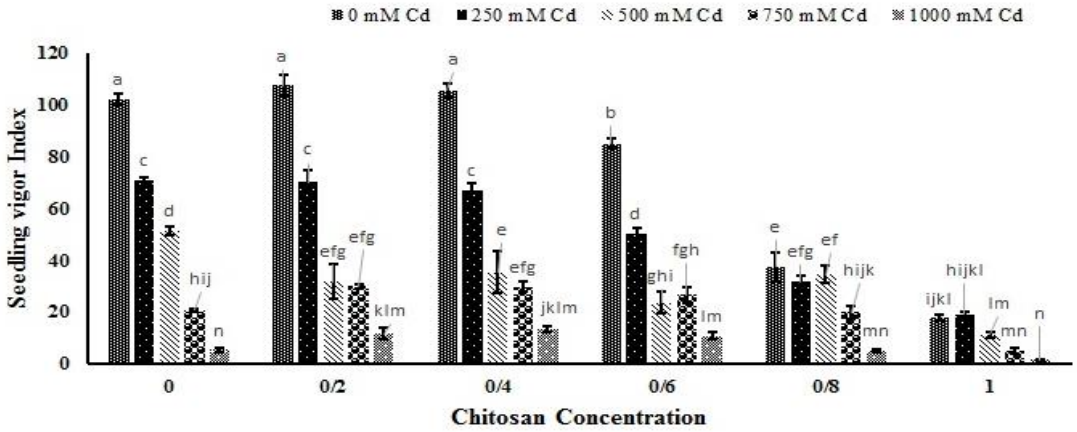



شکل ۲- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر سرعت جوانه‌زنی گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 2. The effect of chitosan priming on germination rate traits under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

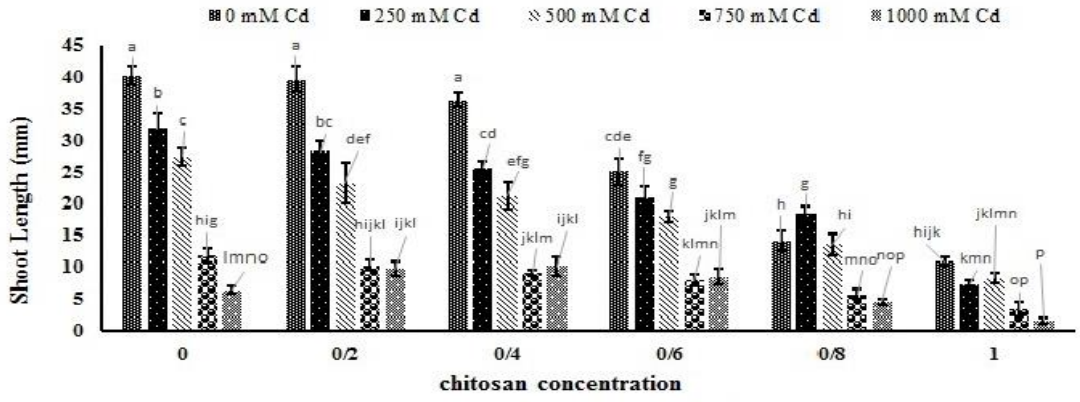
[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]



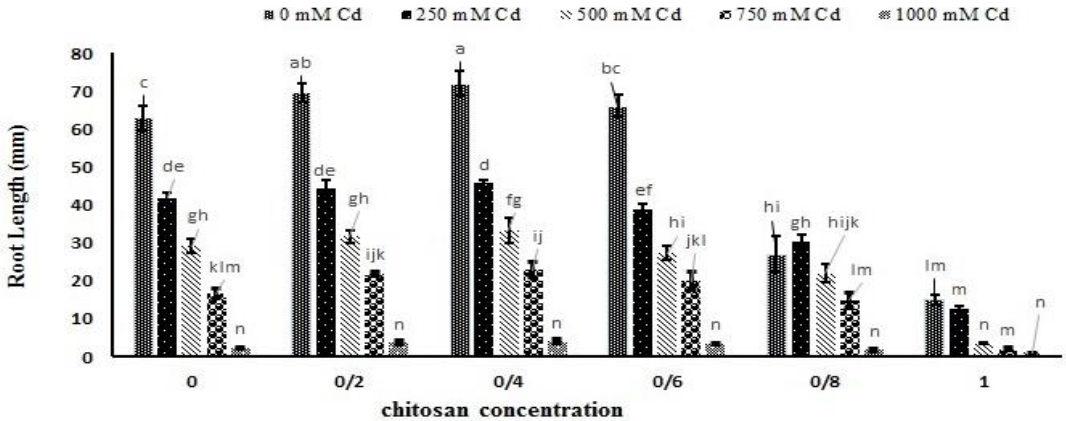

شکل ۳- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر شاخص بنیه گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 3. The effect of chitosan priming on seedling vigor index traits under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.




شکل ۴- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر شاخص طول ساقه‌چه گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 4. The effect of chitosan priming on shoot length traits under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

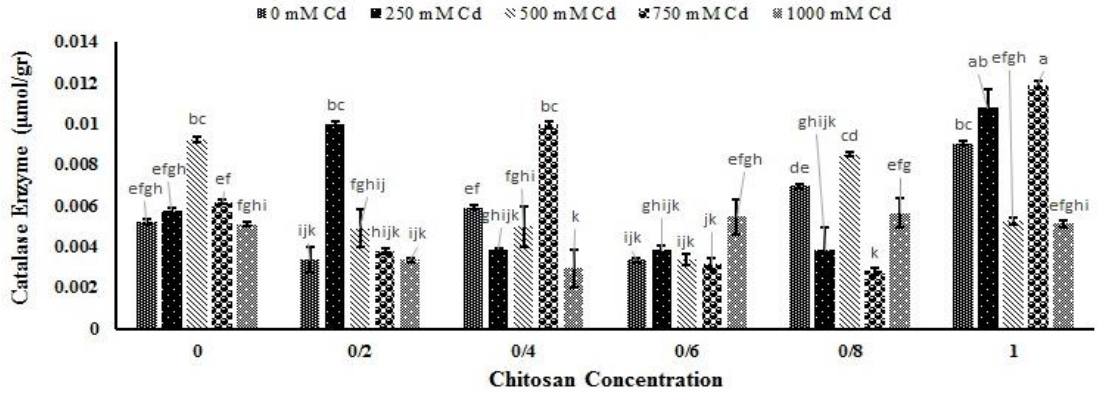



شکل ۵- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر طول ریشه‌چه گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 5. The effect of chitosan priming on Root length traits under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]




شکل ۶- تاثیر پرایمینگ کیتوزان بر میزان محتوی آنزیم کاتالاز در گیاه سیاه‌دانه تحت تنش کلریدکادمیوم. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 6. The effect of chitosan priming on catalase enzyme under colored cadmium stress. Unlike letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

براساس نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه با افزایش غلظت کادمیوم، طول ریشه و ساقه‌چه در سیاه‌دانه کاهش یافت که با نتایج محققین در گیاه *Brassica Juncea* (Mohamed *et al.*, 2012)، سیاه‌دانه (Tavakoli Hasanaklo *et al.*, 2015) و گندم (Zaari Jabri *et al.*, 2024) تحت تنش کادمیوم مطابقت داشت. همچنین بررسی پارامترهای جوانه‌زنی در برخی گیاهان دارویی بهاره از قبیل خرفه، سیاه‌دانه، شنبلیله، شوید، ریحان، زنیان نشان داد که غلظت کم کادمیوم باعث تحریک رشد گیاهچه شد ولی در تمام گیاهان غلظت بالای ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و بنیه بذر گردید (Fallah *et al.*, 2018). مهار رشد گیاهان توسط فلزات سنگین ممکن است به‌علت تاثیر فلزات سنگین بر چرخه تقسیم سلولی باشد که سبب افزایش زمان چرخه سلولی و کاهش شاخص میتوزی می‌شوند (Radha *et al.*, 2010). از سویی بیشترین اثر سمیت کادمیوم بر طول ریشه‌چه و سپس بر طول ساقه‌چه سیاه‌دانه دیده شد. از آن‌جا که ریشه گیاه در تماس مستقیم با کادمیوم می‌باشد، ممانعت از طویل شدن طول ریشه‌چه به‌راحتی قابل مشاهده است (Zhou *et al.*, 2002). لذا در مطالعه پاسخ‌های تنش غیرزیستی گیاهی داده‌های مربوط به ریشه از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا آن‌ها نشانه اصلی قرار گرفتن گیاهان در معرض عوامل تنش‌زا هستند. نتایج مطالعات آیسیک و همکاران (Aycicek *et al.*, 2008) نیز حاکی از وجود اثرات کاهشی و معنی‌دار کادمیوم بر ریشه‌چه آفتابگردان بود که تأییدکننده نتایج این پژوهش بود.

استفاده از کیتوزان برای پرایمینگ بذر سیاه‌دانه اثر مثبتی بر افزایش طول ریشه‌چه و گیاهچه داشت، افزایش طول گیاهچه تحت پرایمینگ می‌تواند به‌دلیل نقش کیتوزان در افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده باشد که از یک طرف سبب تجزیه مواد آندوسپرمی و انتقال فرآورده‌های متابولیکی شده و از جهت دیگر سبب تضعیف دیواره سلولی و بهبود ظهور ریشه‌چه می‌گردد (Abdallah *et al.*, 2020). علاوه‌بر این چنین بهبودی ممکن است به‌دلیل جذب بالای آب و مواد مغذی ناشی از تنظیم اسمزی بهتر سلولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های مهارکننده توسط کیتوزان باشد (Guan *et al.*, 2009).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت کادمیوم، جوانه‌زنی و پارامترهای رشدی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نتایج محققین در بررسی اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵، ۱، ۲، ۳ درصد) بر روی جوانه‌زنی گلرنگ تحت تنش کم‌آبی نشان داد که پیش‌تیمار کیتوزان تنها در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴درصد سبب بهبود جوانه‌زنی گردید (Mahdavi *et al.*, 2013). مهدی پور و همکاران (Mahdipour *et al.*, 2022) نیز با بررسی پارامترهای رشدی در گیاه سیاه‌دانه تحت تیمار با کیتوزان با غلظت‌های (۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۲، ۱ و ۴ درصد) نشان دادند که تیمار ۰/۰۱ تا ۱درصد کیتوزان سبب افزایش پارامترهای رشد و جوانه‌زنی شدند. در حالی‌که پرایمینگ در غلظت بالای چهار درصد سبب روند کاهشی پارامترهای رشد و جوانه‌زنی شد که در تطابق با نتایج این مطالعه بود. در مجموع نتایج این پژوهش بیان داشت که غلظت یا دفعات زیاد محلول‌پاشی نه‌تنها موجب بهبود تأثیر نمی‌شود، بلکه می‌تواند اثرات منفی نیز به‌همراه داشته باشد (Ranjbar *et al.*, 2017).

**آنزیم کاتالاز**

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۰/۰۰۹۲ میکرومول بر گرم بافت تازه) با افزایش ۷۷ درصد نسبت به شاهد و بعد از آن مربوط به تیمار ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۰/۰۰۶۱ میکرومول بر گرم بافت تازه) بود (شکل ۶). پرایمینگ با کیتوزان در تیمار ۰/۸ درصد کیتوزان با میزان ۰/۰۰۶۹ میکروگرم در گرم وزن تر و تیمار ۰/۴ درصد کیتوزان با میزان ۰/۰۰۵۹ میکروگرم در گرم وزن تر به‌ترتیب سبب افزایش ۳۲/۶ و ۱۳ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند. نتایج مقایسه میانگین آنزیم کاتالاز تحت برهم‌کنش پرایمینگ کیتوزان و کادمیوم حاکی از تاثیر کیتوزان در افزایش کاتالاز در تنش کادمیوم بود. بیشترین میزان کاتالاز در شرایط ۲۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم و پرایمینگ ۰/۲ و یک درصد کیتوزان (۰/۰۱ میکرومول برگرم بافت تازه) و در شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلرید کادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۴ و یک درصد کیتوزان (۰/۰۱ میکرومول برگرم بافت تازه) بود.

همان‌طور که اشاره شد، تجمع کادمیوم منجر به اثرات سمی مختلف در گیاهان (سطوح رشد، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مولکولی) می‌شود. لذا برای اجتناب و یا تحمل تنش مکانیسم‌های سم‌زدایی از طریق مسیرهای سیگنالینگ مختلف (مانند تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و سنتز فیتوهورمون) در گیاهان در طول قرار گرفتن در معرض کادمیوم فعال می‌شود (Ghosh & Roy, 2019). افزایش رادیکال‌های آزاد به‌عنوان سیگنال مولکولی سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مانند CAT و POD در گیاه می‌گردد (Asad *et al.*,

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

2019). همکاری این آنزیم‌های محافظ می‌تواند ROS را از بین ببرد و هموستازی را بین تولید و تخریب ROS حفظ کرده و سطح رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. در نهایت، آسیب به سلول‌ها می‌تواند کاهش یا اجتناب یابد. کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی است که با تجزیه پراکسیدهیدروژن به آب و اکسیژن از تجمع پراکسید در اندامک‌ها و بافت‌های سلولی و از آسیب‌های ناشی از آن محافظت می‌کند (Asada, 2006). بر اساس نتایج این مطالعه تنش کادمیوم به‌میزان ۵۰۰ میکرومولار سبب افزایش میزان فعالیت کاتالاز شده در حالی‌که با افزایش بیشتر دز کادمیوم فعالیت این آنزیم کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد غلظت‌های زیاد فلزات فعال چون کادمیوم منجر به تخریب ساختارهای پروتئینی و آنزیمی در سلول شده و از نظر اکسیداسیون و احیا منجر به کاهش میزان فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Sheikhzadeh, 2020). از سویی بررسی روند کاهشی میزان فعالیت آنزیم همراه با افزایش دز تنش چنین استنباط می‌گردد که قابلیت گیاهان برای افزایش محافظت آنتی‌اکسیداسیونی برای مقابله با پیامدهای منفی تنش فلزات سنگین محدود می‌باشد (Schutzendubel & Polla, 2002).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پرایمینگ با کیتوزان سطح فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد تحت تنش افزایش داد تا اثرات سوء حاصل از تنش کادمیوم را محدود نماید که با نتایج تحقیقات دیگر هم‌خوانی دارد (Caruso *et al.*, 2009؛ Mahdavi *et al.*, 2013). علت افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پس از پرایمینگ و تحت تنش محیطی می‌تواند به‌دلیل بهبود و تسریع در ساخت DNA در بافت جنینی در مدت پرایمینگ باشد (Moosavi *et al.*, 2009).

**آنزیم پراکسیداز**

با افزایش غلظت کادمیوم، فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان این آنزیم در سطح ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۰/۰۰۵۳ میکرومول بر گرم بافت تازه) و ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم (۰/۰۰۵ میکرومول بر گرم بافت تازه) مشاهده شد (شکل ۷). در بین تیمارهای مربوط به پرایمینگ کیتوزان بیشترین میزان آنزیم پراکسیداز (۰/۰۰۳۶ میکرومول بر گرم بافت تازه) مربوط به تیمار ۰/۴ درصد کیتوزان بود که حدود ۱۱۱ درصد نسبت به شاهد بیشتر بود و پس از آن تیمار ۰/۸درصد کیتوزان (۰/۰۰۲۶ میکرومول بر گرم بافت تازه) بیشترین میزان آنزیم را داشتند. نتایج مقایسه میانگین آنزیم پراکسیداز تحت برهم‌کنش پرایمینگ کیتوزان و کادمیوم نشان داد که بیشترین میزان این آنزیم در شرایط ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۰/۰۰۸۳ میکرومول بر گرم بافت تازه) و در شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۲ درصد کیتوزان (۰/۰۰۸۲ میکرومول بر گرم بافت تازه) و در شرایط ۷۵۰ میکرومولار کلریدکادمیوم مربوط به پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۰/۰۰۷۱ میکرومول بر گرم بافت تازه) و در شرایط ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم مربوط به پرایمینگ یک درصد کیتوزان (۰/۰۰۶۱ میکرومول برگرم بافت تازه) بود.

افزایش غلظت کادمیوم سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت‌های ۷۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم شده‌است. آنزیم POD با مهار انواع اکسیژن فعال از جمله $H_2O_2$ سبب کنترل تنش در سیاه‌دانه می‌گردد (Zahang *et al.*, 2009). نتایج همچنین نشان داد که با افزایش سطح تنش (۱۰۰۰ میکرومولار کادمیوم) سطح فعالیت POD کاهش یافت که این می‌تواند بیانگر آستانه تحمل سیاه‌دانه در برخورد با این سطح از تنش باشد (Schutzendubel & Polla, 2002).

پرایمینگ با کیتوزان تأثیر مثبت و بهبود دهنده‌ای بر افزایش سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت. به‌نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و POD در سیاه‌دانه پرایمینگ شده به‌دلیل اثر تحریک‌کنندگی کیتوزان بر ژن‌های درگیر در بیوسنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد. به‌طورکلی، کیتوزان از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و جاروب ROS، باعث مقاومت گیاه در مقابل تنش‌ها و تحریک رشد گیاه می‌شود (Aghighi Shahverdi *et al.*, 2017). نوری و همکاران (Noori *et al.*, 2022) با مطالعه روی گیاه زیره نشان دادند پرایمینگ با کیتوزان فعالیت آنزیم POD را در تمام سطوح اسمزی در مقایسه با بذرهای غیر پرایم‌شده بهبود بخشیده‌است. مهدوی و همکاران (Mahdavi *et al.*, 2013) در بررسی اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان در گلرنگ گزارش دادند که غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان سبب افزایش محتوی پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گلرنگ شد.

**محتوی قند محلول**

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تنش کادمیوم سبب افزایش محتوی قند محلول نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که بیشترین محتوی قند محلول ( ۰/۹۲ میکروگرم در گرم وزن تر) در کادمیوم ۲۵۰ میکرومولار حاصل شد که بیانگر افزایش ۵۰/۸ درصدی این صفت بود (شکل ۸). بعد آن بیشترین محتوی قند محلول ( ۰/۸۴ میکروگرم در گرم وزن تر) در تیمار ۷۵۰ میکرومولار کادمیوم حاصل شد که بیانگر افزایش ۳۷/۷ درصدی این صفت نسبت به شاهد بود. در تیمار پرایمینگ با کیتوزان در سطوح ۰/۲ ، ۰/۴ و ۰/۶ درصد تفاوت معنی‌داری با شاهد برای محتوی قند محلول دیده نشد. ولی پرایمینگ در تیمار ۰/۸ درصد کیتوزان با میزان ۰/۹۷ میکروگرم در گرم وزن تر و تیمار یک درصد کیتوزان با میزان ۰/۸۹ میکروگرم در گرم وزن تر به‌ترتیب سبب افزایش ۵۷ و ۴۵ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند. نتایج برهم‌کنش کادمیوم کیتوزان نشان داد که پرایمینگ کیتوزان در تمامی چهار سطح سبب افزایش محتوی قند محلول در تنش ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم شد. به‌طوری‌که بیشترین محتوی قند محلول مربوط به شرایط ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم در پرایمینگ ۰/۸ درصد کیتوزان (۰/۷۲ میکروگرم در گرم وزن تر) و در پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان (۰/۶۶ میکروگرم در گرم وزن تر بود.

مطالعات نشان می‌دهد که تنش کادمیوم سبب تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌گردد که شایع‌ترین تغییرات شامل تغییرات در محتوای پرولین، مالون دی‌آلدئید، قند محلول، پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم است. این تغییر به‌دلیل تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد، مهار آنزیم‌ها و یا کمبود موادمغذی است (Hasanuzzaman *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر نیز تنش کادمیوم سبب افزایش محتوی قند محلول در سیاه‌دانه گردید که با نتایج وانگ و همکاران (Wang *et al*, 2024) در گیاه *Pinus massoniana* و کوی و همکاران (Cui *et al.*, 2021) در گیاه *Spathiphyllum* مطابقت داشت. در کل افزایش محتوی قند ممکن است به این دلیل رخ داده باشد که در مراحل اولیه تنش فلزات سنگین، گیاهان از مکانیزم مقاومت داخلی استفاده می‌کنند که می‌تواند باعث افزایش پروتئین محلول و قند محلول شود (Wang *et al*, 2024).

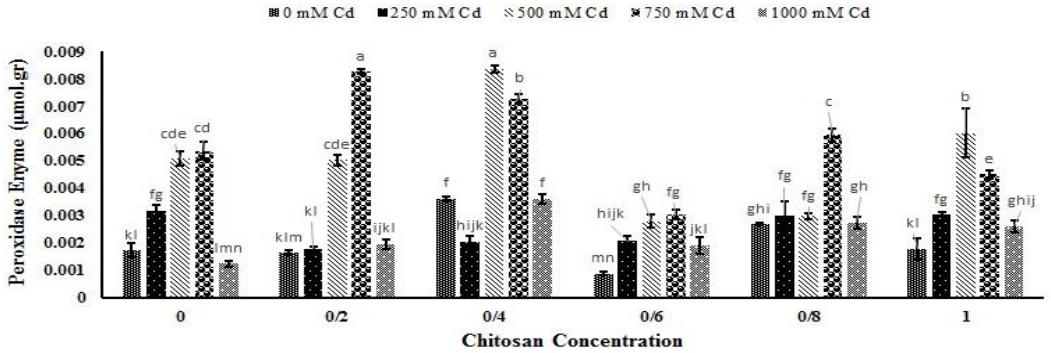
بر اساس نتایج مطالعه حاضر محتوی قند محلول در گیاهان پرایمینگ‌شده با کیتوزان نسبت به گیاهان غیرپرایمینگ شده بیشتر می‌باشد که با تحقیقات انجام گرفته در گیاهان مختلف مطابقت دارد

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

(Behboud *et al*., 2020; Guan *et al*., 2009). دلیل این افزایش نقش کیتوزان در افزایش محتوای اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قندهای محلول در گیاه پرایم‌شده می‌باشد که به حفظ تعادل آبی و کاهش اثرات منفی تنش کادمیوم کمک می‌کند (Mamgain *et al*., 2023).

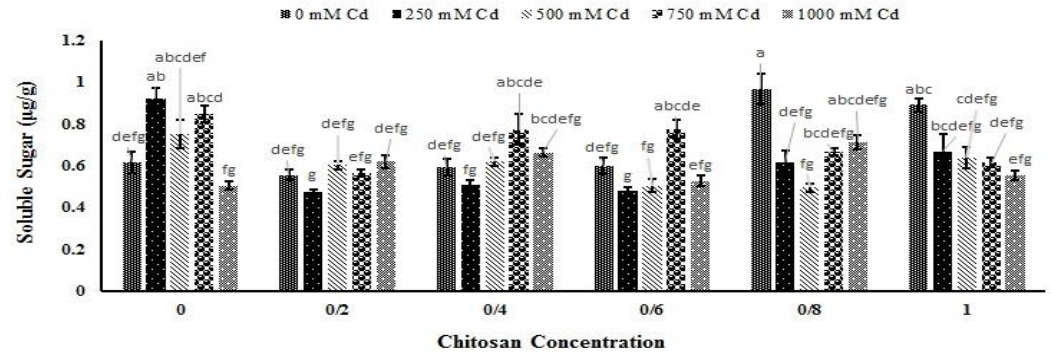
**پرولین**

افزایش غلظت کادمیوم، فعالیت پرولین را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. به‌طوری‌که تیمار ۵۰۰ میکرومولار آلودگی با کادمیوم با ۸۸/۲۲ میکرومول بر گرم بافت تازه و تیمار ۷۵۰ میکرومولار آلودگی با کادمیوم با ۷۰/۰۷ میکرومول بر گرم بافت تازه بیشترین میزان پرولین را نشان دادند (شکل ۹). پرایمینگ کیتوزان سبب روند افزایشی میزان تولید پرولین شد به‌طوری‌که تیمار ۰/۸ درصد با میزان ۶۹/۶ میکروگرم در گرم وزن تر و تیمار ۰/۶ درصد کیتوزان با میزان ۶۷/۵ میکروگرم در گرم وزن تر به‌ترتیب سبب افزایش ۷۹/۷ و ۷۴/۲ درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند. نتایج بررسی فعالیت آنزیم پرولین در اثر متقابل پرایمینگ کیتوزان و کادمیوم نشان داد که در پرایمینگ ۰/۲ درصد کیتوزان و آلودگی ۵۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم بیشترین فعالیت پرولین (۸۸/۲۲ میکرومول بر گرم بافت تازه) مشاهده شد که این میزان ۲۵ درصد بیشتر از شاهد (بدون پرایمینگ) بود.



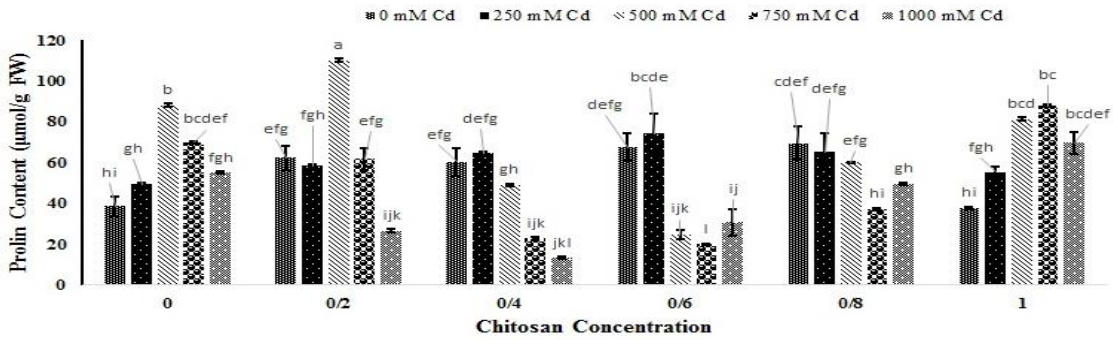

شکل ۷- تاثیر پرایمینگ با کیتوزان و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 7. Effect of priming with chitosan and cadmium on peroxidase enzyme activity. Dissimilar letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test




شکل ۸- تاثیر پرایمینگ با کیتوزان و کادمیوم بر میزان فعالیت قند محلول. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد

Figure 8. The effect of priming with chitosan and cadmium on the amount of soluble sugar activity. Dissimilar letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test




شکل ۹- تاثیر پرایمینگ با کیتوزان و کادمیوم بر میزان فعالیت آنزیم پرولین.حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

Figure 9. The effect of priming with chitosan and cadmium on the activity of proline enzyme. Dissimilar letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

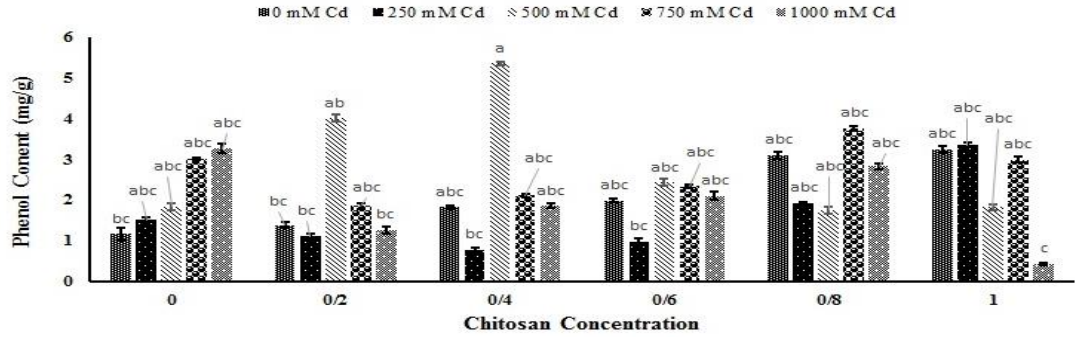
بعد آن بیشترین محتوی پرولین در آلودگی ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم در پرایمینگ یک درصد کیتوزان (۸۷/۹ میکروگرم در گرم وزن تر) و در آلودگی ۲۵۰ میکرومولار در پرایمینگ ۰/۶ درصد کیتوزان (۷۴/۳ میکروگرم در گرم وزن تر) بود.

پرولین یک پروتئین به‌شدت آب‌دوست و محافظت‌کننده حیاتی است که از طریق غیر فعال کردن ROS و کاهش پتانسیل آب، حفظ فعالیت برخی از ماکرومولکول‌های بیولوژیکی و تثبیت ساختارهای غشایی مسئول کاهش استرس در سلول‌های گیاهی است (Hidangmayum & Dwivedi, 2018). گزارش شده‌است که در مواجهه با کادمیوم، محتوای پرولین در گونه‌های مختلف گیاهی از جمله خیار (Semida *et al*., 2018) سیاه‌دانه (Fallah *et al*., 2018) و لوبیا (Rady *et al*., 2019) افزایش یافت. افزایش این پروتئین در شرایط تنش برای بسیاری از گونه‌های گیاهی، به میزان مقاومت آن‌ها در برابر تنش بستگی دارد به‌طوری‌که غلظت پرولین در گیاهان مقاوم بیشتر از گیاهان حساس است (Ashraf & Foolad, 2007). در مطالعه حاضر همراه با افزایش غلظت کادمیوم تا ۷۵۰ میکرومولار محتوی پرولین افزایش یافت ولی در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار محتوی پرولین کاهش یافت که بیانگر آستانه تحمل سیاه‌دانه به تنش بود.

پرولین یک متابولیت مهم برای سازگاری گیاه، حفاظت و تحمل به تنش کادمیوم است که افزایش معنی‌دار آن در سیاه‌دانه پرایم‌شده نسبت به گیاهان غیرپرایم شده حاکی از تاثیر مثبت و بهبود دهنده کیتوزان به‌عنوان القاکننده مقاومت به تنش کادمیوم بود. در مطالعه باغستانی و همکاران (Emami Bistgani *et al*., 2017) نشان داده شد که آویشن‌های پرایم‌شده با کیتوزان پرولین بالایی را نسبت به گیاهان غیرپرایم شده نشان دادند که در تأیید نتایج این مطالعه بود.

## محتوی فنل

افزایش غلظت کلریدکادمیوم سبب افزایش محتوی فنل شد. به‌طوری‌که تیمار ۱۰۰۰ میکرومولار آلودگی با کلریدکادمیوم با میزان ۳/۲ میلی‌گرم بر گرم عصاره و تیمار ۷۵۰ میکرومولار آلودگی با کلریدکادمیوم با میزان ۳ میلی‌گرم بر گرم عصاره به‌ترتیب سبب افزایش ۱۷۸/۲ و ۱۶۰/۸درصدی این صفت نسبت به شاهد شدند (شکل۱۰). پرایمینگ کیتوزان سبب افزایش محتوی فنل گردید به‌طوری‌که تیمار پرایمینگ با غلظت ۰/۸ کیتوزان با میزان ۳/۲ میلی‌گرم بر گرم عصاره و تیمار یک درصد کیتوزان با میزان ۳/۰۹ میلی‌گرم بر گرم عصاره دارای بیشترین میزان فنل بودند. نتایج بررسی فنل در برهم‌کنش کلریدکادمیوم کیتوزان نشان داد که در پرایمینگ ۰/۴ درصد کیتوزان و آلودگی ۵۰۰ میکرومولار کادمیوم بیشترین فعالیت فنل ( ۵/۳۵ میلی‌گرم بر گرم عصاره) مشاهده شد که این میزان ۱۹۳/۳ درصد بیشتر از شاهد (بدون پرایمینگ) بود. بعد آن بیشترین محتوی فنل در آلودگی ۵۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در پرایمینگ ۰/۲ درصد کیتوزان (۴/۰۱ میلی‌گرم بر گرم عصاره) و در آلودگی ۷۵۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در پرایمینگ ۰/۸ درصد کیتوزان (۳/۷۵ میلی‌گرم بر گرم عصاره) بود. همچنین کمترین میزان فنل در آلودگی ۱۰۰۰ میکرومولار کلرید کادمیوم در پرایمینگ یک درصد کیتوزان (۰/۴ میلی‌گرم بر گرم عصاره) مشاهده شد.




شکل ۱۰- تاثیر پرایمینگ با کیتوزان و کادمیوم بر میزان فعالیت فنل. حروف نامشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ آزمون LSD می‌باشد.

Figure 10. The effect of priming with chitosan and cadmium on the phenol activity. Dissimilar letters indicate a significant difference at the 5% level of the LSD test.

نقش ترکیبات فنلی مربوط به خواص اکسیداسیون احیاء آن‌ها است که نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیدازهای تجزیه‌کننده دارند. انباشتگی ترکیبات فنلی در شرایط تنشی می‌تواند به‌عنوان یک علامت عمل کند و برای راه‌اندازی زنجیرهایی از واکنش‌های دیگر که در نهایت به افزایش تحمل به تنش منجر می‌شود، عمل کند (Benkaci-Ali *et al*., 2013). در مطالعه حاضر افزایش غلظت کادمیوم سبب افزایش محتوی فنلی گردید. تبریزی و همکاران (Tabrizi *et al*., 2016) با بررسی تأثیر چهار تیمار کلرید کادمیوم (شاهد، ۳۰۰ ، ۶۰۰ و ۹۰۰ میکرومولار) بر گیاه دارویی مارتیغال گزارش کردند که محتوای فنل کل و فلاونوئیدها در سطح ۹۰۰ میکرومولار کادمیوم افزایش معنی‌داری یافت. در مطالعه دیگر در گیاه مریم‌گلی نیز افزایش معنی‌داری از میزان فنل در اثر تنش کادمیوم مشاهده شد (Gerami *et al*., 2018) که تأییدکننده نتایج این مطالعه بود.

پرایمینگ کیتوزان تاثیر بهبود دهنده‌ای در محتوی فنلی در گیاهان پرایم‌شده نسبت به گیاهان غیر پرایم‌شده داشت. طبق تحقیقات انجام‌شده پرایمینگ کیتوزان سبب افزایش محتوی فنلی در گندم (Saadat *et al*., 2022) و برنج (Zaari Jabri *et al*., 2024) شده‌است. کیتوزان به‌عنوان یک الیسیتور زیستی ممکن است دارای پتانسیل برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد باشد که باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی می‌شود (Naderi *et al*., 2014).

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، تنش کلریدکادمیوم در تمامی سطوح به واسطه کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]
[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

موجب مانعت از رشد گیاهچه سیاه‌دانه گردید. به‌طوری‌که کمترین میزان این صفات در تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار کلریدکادمیوم دیده شد. علاوه‌براین افزایش غلظت کادمیوم سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌هایی آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز و غیرآنزیمی مانند پرولین، فنل و ترکیبات قند محلول شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل (۳/۲ میلی‌گرم بر گرم عصاره) در تیمار ۱۰۰۰میکرومولار آلودگی با کلریدکادمیوم مشاهده شد. از سویی بررسی نتایج نشان داد که به‌کارگیری پرایمینگ بذر با کیتوزان توانست تا حدودی اثرات منفی تنش کلریدکادمیوم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه و طول ریشه‌چه را تقلیل دهد و میزان محتوی پروتئین‌های آنتی‌اکسیدان را به‌طور قابل‌توجهی در گیاهان تحت تنش کادمیوم نسبت به گیاهان غیر پرایم‌شده افزایش دهد.

لذا بر اساس مطالعه حاضر چنین استنباط می‌شود که کاربرد کیتوزان ممکن است سبب فعال شدن چندین مکانیسم بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در سیاه‌دانه شود. این نتایج نشان‌دهنده این است که استفاده از پرایمینگ بذر با کیتوزان می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش تحمل سیاه‌دانه به تنش کادمیوم پیشنهاد و بررسی گردد.

## References

Abbasi Khalaki, M., Moameri, M., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2021). Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. *Plant Growth Regulation*, *93*(1), 13-28. https://doi.org/10.1007/s10725- 020-00670-9.

Abdallah, M. M. S., Ramadan, A., El-Bassiouny, H. M. S., & Bakry, B. A. (2020) Regulation of antioxidant system in wheat cultivars by using chitosan or salicylic acid to improve growth and yield under salinity stress. Asian. *Journal of Plant Science*, 19, 114-126. https://doi.org/ 10.3923/ajps.2020.114.126

Abid, M., Hakeem, A., Shao, Y., Liu, Y., Zahoor, R., Fan, Y., Suyu, J., AtaUl-Karim, S.T., Tian, Z., Jiang, D., Snider, J.L., & Dai, T. (2018) Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 145, 12–20. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.002

Aghighi Shahverdi, M., Omidi, H., & Mousavi, S.E. (2017) Effect of chitosan on seed germination and biochemical traits of milk thistle (*Silybum marianum*) seedling under salt stress. Iran. *Journal of Seed Research*, 3(2), 105-118. https://doi.org/10.29252/yujs.3.2.105

Akramian, M., Hosseini, A., Kazerooni, M., & Rezvani, M.J. (2007) Effect of seed osmopriming on germination and seedling development of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iran. *Journal of Field Crop Research*, 5(1), 37-46. https://doi.org 10.22067/GSC.V5I1.894

Arabshahi-Delouee, S., & Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102(4), 1233-1240. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.013

Asad, S. A., Farooq, M., Afzal, A., & West, H. (2019). Integrated phytobial heavy metal remediation strategies for a sustainable clean environment—A review. *Chemosphere*, 217: 925–941. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.021

Asada K. (1999) The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Biology*, 50, 601–639. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.601

Aycicek, M., Kaplan, O. & Yaman, M. (2008) Effect of cadmium on germination, seedling growth and metal contents of sunflower (*Helianthus annus* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 20(4), 2663-2672.

Balestrasse, K. B., Gallego, S.M., & Tomaro, M. L. (2004). Cadmium-induced senescence in nodules of soybean (*Glycin max* L.) plants. *Plant and Soil*, 262, 373-381. https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000037056.11877.7b

Basra, S. M. A., Afzal, I., Anwar, S., Anwar-ul-haq, M., Shafq, M. & Majeed, K. (2006) Alleviation of salinity stress by seed invigoration techniques in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Seed Technology*, 28, 36-46.

Bates, S., Waldern, R. P., &Teare, E.D. (1973). Rapide determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soli*, 39:205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Behboud, R., Moradi, A., & Farajee, H. (2020) Effect of Different Chitosan Concentrations on Seed Germination and Some Biochemical Traits of Sweet Corn (*Zea mays* var. Saccharata) Seedling under Osmotic Stress Conditions. *Iran Journal of Seed Research*, *7*(1), 1 https://doi.org/10.29252/yujs.7.1.1

Benkaci-ali, F., Akloul, R., Boukenouche, A., & De Pauw, E. (2013) Composition of the essential oil of *Nigella sativa* seeds extracted by microwave steam distillation. *Journal of Essent Oil Bear Plant*, 16, 781–794. https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.813275.

Bermudes, G. M. A., Moreno, M, Invernizzi, R, Pla, R., & Pignata, M. L. (2010). Heavy metal pollution in topsoils near a cement plant: The role of organic matter and distance to the source to predict total and HCl-extracted heavy metal concentrations. *Chemosphere*, 78, 375-381. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.012

Caruso, G., Cavaliere, C., Foglia, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., & Lagana, A. (2009) Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Plant Science*, 177, 570–576. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.08.007

Chance, B., & Maehly, A. C. (1995) Assay of catalases and peroxidases. *Methode Enzyme*. 2, 764-775. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8

Choudhury, S., & Panda, S. K. (2004) Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in (*Oryza sativa* L.) roots. *Bulgar Journal of Plant Physiol*, 30, 95-110.

Cui, L., Shi, G., & Li, G. (2021) Effects of Zn and Cd on Physiological and Biochemical Characteristics, and Heavy Metal Accumulation of Landscape Plants. *Journal of Anqing Normal Univ*, 27, 79–87. https://doi.org/10.13757/j.cnki.cn34-1328/n.2021.02.016

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

Dragicevic, V., Spasic, M., Simic, M., Dumanovic, Z., & Nikolic, B. (2013) Stimulative infuence of germination and growth of maize seedlings originating from aged seeds by 2,4-D potencies. *Homeopathy*, 102(3), 179–186. https://doi.org/10.1016/j.homp.2013.05.005

Ekmekci, Y., Tanyolac, D., & Ayhan, B. (2008) Effect of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. *Journal of Plant Physiol*, 165, 600–611. https://doi.org/ 10.1016/j.jplph.2007.01.017

Emami Bistgani, Z., Siadat, S.A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A., & Hashemi, M. (2017) Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of *Thymus daenensis* Celak. *Crop Journal*, 5, 407-415. https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003

Naderi, S., Fakheri, B., & Esmailzadeh Bahabadi, S. (2014). Increasing of Chavicol o-Methyl Transfrase Gene Expression and Catalase and Ascorbate Peroxidase Enzymes ctivity of Ocimum basilicum by Chitosan. *Crop Biotechnology*, *3*(3), 1-9.

Fallah, S., Malekzadeh, S., & Pessarakli, M. (2017). Seed priming improves seedling emergence and reduces oxidative stress in *Nigella sativa* under soil moisture stress. *Journal of Plant Nutrition*, 41(1), 29-40. https://doi.org/10.1080/01904167.2017.1381719

Fan, L., Zheng, S., & Wang, X. (1997). Antisense suppression of phospholipase D alpha retards abscisic acid-and ethylene-promoted senescence of postharvest Arabidopsis leaves. *The Plant Cell*, 9, 2183-2196. https://doi.org/10.1105/tpc.9.12.2183

Gengmao, Z., Quanmei, S., Yu, H., Shihui, L., & Changhai, W. (2014). The physiological and biochemical responses of a medicinal plant (*Salvia miltiorrhiza* L.) to stress caused by various concentrations of NaCl. *PloS One*, 9(2), e89624. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089624

Gerami, M., Ghorbani, A., & Karimi, S. (2018) Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in *Salvia officinalis* L. *Iranian Journal of Plant Biology*, 10(1), 81-95. https://doi.org/10.22108/IJPB.2018.108633.1069

Ghosh, R., & Roy, S. (2019). Cadmium toxicity in plants. In M. Hasanuzzaman, M. N. V. Prasad & K. Nahar (Eds.), Cadmium tolerance in plants (pp. 223–246). *Elsevier Inc*. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815794-7.00008-4

Górnik, K., Grzesik, M., & Romanowska-Duda, B. (2008). The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, *16*, 333-343.

Guan, Y. J., Hu, J., Wang, X. J., & Shao, C. X. (2009). Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, *10*, 427-433. https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373

Guilherme, M.F.S., Oliveira, H.M., & Silva, E.D. (2015). Cadmium toxicity on seed germination and seedling growth of wheat *Triticum aestivum*. *Acta Scientiarum Biol Sciences*, 37(4), 499-504. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v37i4.28148

Haider, F.U., Liqun, C., Coulter, J.A., Cheema, S.A., Wu, J., Zhang, R., Wenjun, M., & Farooq, M. (2021). Cadmium toxicity in plants: impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 211, 111887. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2018). Plants under metal and metalloid stress—Responses, tolerance and remediation (M. Hasanuzzaman, K. Nahar, & M. Fujita (Eds.)). *Springer Nature*. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2242-6

Hidangmayum, A., & Dwivedi, P. (2018), Plant responses to *Trichoderma spp*. and their tolerance to abiotic stresses: a review. *Journal of Pharmacogn Phytochem*, 7(1), 758–766

Huang, G. T., Ma, S. L., Bai, L. P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., ... & Guo, Z. F. (2012). Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Reports*, *39*, 969-987. https://doi.org/10.1007/s11033-011-0823-1

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K., & Sharma, S. (2009). Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L. *International Journal of Plant Production*. 3(3),1735-8043. https://doi.org/ 10.22069/IJPP.2012.653

Kakar, H. A., Ullah, S., Shah, W., Ali, B., Satti, S. Z., Ullah, R., & Ercisli, S. (2023). Seed priming modulates physiological and agronomic attributes of maize (*Zea mays* L.) under induced polyethylene glycol osmotic stress. *ACS omega*, 8(25), 22788-22808. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01715

Kalai, T., Bouthour, D., Manai, J., Bettaieb Ben Kaab, L., & Gouia, H. (2016). Salicylic acid alleviates the toxicity of cadmium on seedling growth, amylases and phosphatases activity in germinating barley seeds. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *62*(6), 892-904. http://dx.doi.org/10.1080/03650340.2015.1100295

Kalai, T., Khamassi, K., Teixeira da Silva, J.A., Gouia, H. & Ben-Kaab, L.B. (2014.) Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(6), 765-783 https://doi.org/10.1080/03650340.2013.838001

Kanafi Lesko Kelayeh M, Bagheri N, Babaeian Jelodar N, Ghajar Sepanlou M. (2021). Effect of Cadmium Stress on Morphophysiological Traits of Rice Seedlings. *Journal of Crop Breeding*. *13*(37), 11-21. https://doi.org/10.52547/jcb.13.37.11 [In Persian]

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

Abbasi Khalaki, M., Moameri, M., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2021). Influence of nano-priming on seed germination and plant growth of forage and medicinal plants. *Plant growth regulation*, *93*(1), 13-28. https://doi.org/10.1007/s10725- 020-00670-9.

Khatamipour, M., Piri, E., Esmaeilian, Y., & Tavassoli, A. (2011). Toxic effect of cadmium on germination, seedling growth and proline content of Milk thistle (*Silybum marianum*). *Annals of Biological Research*. 2(5), 527-532.

Liu, H., Zheng, Z., Han, X., Zhang, C., Li, H., & Wu, M. (2022). Chitosan Soaking Improves Seed Germination of Platycodon Grandiflorus and Enhances Its Growth, Photosynthesis, Resistance, Yield, and Quality. *Horticulturae*, 8(10), 943. https://doi.org/10.3390/horticulturae8100943

Liu, T. T., Wu, P., Wang, L. H., & Zhou, Q. (2011). Response of soybean seed germination to cadmium and acid rain. *Biological Trace Element Research*, *144*, 1186-1196. https://doi.org/10.1007/s12011-011-9053-6

Madadi, M., Khomari, S., Javadi, A., & Sofalian, O. (2016). Effect of black cumin seed priming with calcium nitrate and nano-zinc oxide on germinability and seedling growth under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 5(15), 169-171. https://doi.org/20.1001.1.23222727.1395.5.15.14.7

Mahdavi Betoul, S. A. M., Agha Alikhani, M. & Sharif M. (2013). The effect of different concentrations of chitosan on seed germination and antioxidant enzymes of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under water stress conditions. *Journal of Plant Research*, 26(3), 352-365. https://doi.org/20.1001.1.23832592.1392.26.3.12.7

Mahdipour, F., Saadatmand, S., Iranbakhsh, A., Norozi, B., & Ardebili, Z.O. (2022). Study of the effect of the chitosan and chitosan nanoparticles on some physiological and phytochemical features of *Nigella sativa* L. *Eco-phytochem Med Plant*, 10(2), 96-113.

Mamgain, J., Mujib, A., Bansal, Y., Gulzar, B., Zafar, N., Syeed, R., & Dewir, Y. H. (2023). Elicitation induced α-amyrin synthesis in tylophora indica in vitro cultures and comparative phytochemical analyses of in vivo and micropropagated plants. *Plants*, 13(1), 122. https://doi.org/10.3390/plants13010122

Menon, P., Joshi, N., & Joshi, A. (2016). Effect of heavy metals on seed germination of *Trigonella foenum-graceum* L. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, *2*(4), 488-493.https://doi.org/10.21276/ijlssr.2016.2.4.27

Miller, T. R., & Chapman, S. R. (1978). Germination responses of three forage grasses to different concentrations of six salts. *Rangeland Ecology & Management/Journal of Range Management Archives*, *31*(2), 123-124. https://doi.org/10.2307/3897659

Mohamed, A. A., Castagna, A., Ranieri, A., & di Toppi, L. S. (2012). Cadmium tolerance in Brassica juncea roots and shoots is affected by antioxidant status and phytochelatin biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry*, *57*, 15-22. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.05.002.

Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F., & Aynehband, A. (2009). Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenoloxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7(3-4), 353-358. https://doi.org/

Naderi, S., Fakheri, B. A., & Bahrami, M. (2014). Effect of chitosan on some physiological and biochemical indices of (*Carum copticum* L.). *Agricultural Research in the Arid Areas*, 1(2), 187-201 https://doi.org/10.22034/CSRAR.01.01.05

Noori, H., Moosavi, S. G., Seghatoleslami, M., & Rostampour, M. F. (2022). Responses of cumin (*Cuminum cyminum* L.) to different seed priming methods under osmotic stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(1), 12600-12600. https://doi.org/10.15835/nbha50112600

Pagter, M., Bragato, C., Malagoli, M., & Brix, H. (2009). Osmotic and ionic effects of NaCl and Na2SO4 salinity on *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, *90*(1), 43-51. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.05.005

Perveen, S., Shahbaz, M., Iqbal, M., Akram, M. S., Parveen, A., & Ali, H. M. M. (2016). Induction of cadmium stress tolerance in *Triticum aestivum* L. by alfalfa leaf extract. *Applied Ecology and Environmental Research*, *14*, 121-136. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y

Radha, J., Srivastava, S., Solomon, S., Shrivastava, A. K. & Chandra, A. (2010). Impact of excess zinc on growth parameters cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum spp*). *Acta Physio Plant*, 32: 979-986. https://doi.org/10.1007/s11738-010-0487-9

Rady, M. M., Elrys, A. S., El-Maati, M. F. A., & Desoky, E. S. M. (2019). Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in Phaseolus vulgaris plant. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 558-568.https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.04.025

Rahneshan, M., Taliei, F., Ahangar, L., Sabouri, H., & Kia, S. (2019). Effect of Chitosan on the Expression Pattern of Some Pathogenecity Related Genes in Wheat Infected with Powdery Mildew. *Journal of Crop Breeding*, *11*(32), 124-132. [In Persian] https://doi.org/10.29252/jcb.11.32.124

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]

Rahneshan, M., Taliei, F., Ahangar, L., Sabouri, H., & Kia, S. (2019). Effect of Chitosan on the Expression Pattern of Some Pathogenecity Related Genes in Wheat Infected with Powdery Mildew. *Journal of Crop Breeding*, *11*(32), 124-132. [In Persian] https://doi.org/10.29252/jcb.11.32.124

Rahoui, S., Chaoui, A., & El Ferjani, E. (2010). Membrane damage and solute leakage from germinating pea seed under cadmium stress. *Journal of hazardous materials*, 178(1-3), 1128-1131.https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.01.115

Rahoui, S., Chaoui, A., Ben, C., Rickauer, M., Gentzbittel, L., & El Ferjani, E. (2015). Effect of cadmium pollution on mobilization of embryo reserves in seedlings of six contrasted *Medicago truncatula* lines. *Phytochemistry*, 111, 98-106. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.002

Rodriguez, J. A., Nanos, N., Grau, J. M., Gil, L., & Lopez-Arias, M. (2008). Multiscale analysis of heavy metal contents in Spanish agricultural topsoils. *Chemosphere*, 70(6), 1085-1096. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.07.056

Schieber, M. & Chandel, N.S. (2014) ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 19(24), 453-462. Doi: 10.1016/j.cub.2014.03.034. PMID: 24845678; PMCID: PMC4055301. http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034

Schutzendubel, A., & Polle, A. (2002). Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of experimental botany*, *53*(372), 1351-1365. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1351

Sedghi, M., Nemati, A., & Esmaielpour, B. (2010). Effect of seed priming on germination and seedling growth of two medicinal plants under salinity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *22*(2), 130. https://doi.org/ 10.9755/ejfa. v22i2.4900

Shao, C., Hu, J., Song, W. & Hu, W.J. (2005) Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling. *Journal of Agriculture & Life Sciences*, 31(6), 705-708. https://doi.org/10.5555/20053221241

Sheikhzadeh, P., Zare, N., & Abootalebi, S. (2022). The effect of cadmium stress on photosynthetic pigments and secondary metabolites in borage (*Borago officinalis* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *15*(4), 1143-1160. https://doi.org/10.22077/escs.2021.4245.1996

Spanany, A., & Fallah, S. (2016). The effect of cadmium stress on seeds germination characteristics of some medicinal plants under in vitro conditions. *Iran Journal of Med Arom Plant*, 32(3), 527-542. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2016.106833

Tabrizi, L., Mohamadi, S. & Motasharezade, B. (2016) The Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Yield of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Under Lead and Cadmium Stress. *Journal of Environmental Sciences*, 13(2), 37-48. https://doi.org/

Tavakoli Hasanaklo, H., Abadi, A., Tavakoli Hasanaklo, N., & Permon, Gh. (2015). Reducing of cadmium stress effects on black seed (*Nigella sativa*) by glycinebetaine pretreatment of seeds. *Plant Process and Function*, 4(11), 99-112. https://doi.org/ 20.1001.1.23222727.1394.4.11.4.2

Vijayaragavan, M., Prabhahar, C., Sureshkumar, J., Natarajan, A., Vijayarengan, 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*(5).

Wang, Y., Qian, J., Zhang, C., & Zhang, Z. (2024). Effects of Cadmium Stress on Seed Germination and Physiology and Biochemistry during Early Seedling Growth of Masson Pine (*Pinus massoniana* Lamb.). *Forest Science*, *70*(3), 242-249. https://doi.org/10.1093/forsci/fxae010

White, P. J., & Brown, P. (2010). Plant nutrition for sustainable development and global health. *Annals of Botany*, 105(7), 1073-1080. https://doi.org/10.1093/aob/mcq085

Jia, X., Rajib, M. R., & Yin, H. (2020). Recognition pattern, functional mechanism and application of chitin and chitosan oligosaccharides in sustainable agriculture. *Current Pharmaceutical Design*, *26*(29), 3508-3521. https://doi.org/10.2174/1381612826666200617165915

Zhang, F., Zhang, H., Wang, G., Xu, L., & Shen, Z. (2009). Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of Phaseolus aureus and Vicia sativa and the roles of different antioxidant enzymes. *Journal of Hazardous Materials*, *168*(1), 76-84. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.002

Zhou, Y. G., Yang, Y. D., Qi, Y. G., Zhang, Z. M., Wang, X. J., & Hu, X. J. (2002). Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *Journal of Peanut Science*, *31*(1), 22-25.

Ziaee, T., Moharreri, N., & Hosseinzadeh, H. (2012). Review of pharmacological and toxicological effects of *Nigella sativa* and its active constituents. *Journal of Plant*, 2, 16-42. https://doi.org/10.5555/20123341055

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-07 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.17.1.142 ]