

## بهبود کارآیی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی با استفاده از پیش تیمار نیترو پروساید سدیم تحت تنش خشکی

حسین رضا روحی<sup>۱\*</sup>، علی مرادی<sup>۲</sup>، مریم ثمن<sup>۳</sup>، علیرضا شاهبداغلو<sup>۴</sup>، یاسین محمدی<sup>۵</sup>

۱. دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

۳. عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور

۴. کارشناس پژوهشی گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

۵. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۴/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۰۸)

### چکیده

به منظور بررسی اثر نیترو پروساید سدیم به عنوان ترکیب آزاد کننده اکسید نیتروژن در بهبود کارآیی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی تحت تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد. پیش تیمار غلظت‌های مختلف نیتروپروساید سدیم شامل صفر (پیش تیمار شده با آب)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرومولار در سطوح خشکی صفر، -۰/۲، -۰/۴ و -۰/۶ - مگاپاسکال مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، بینه بذر، طول گیاهچه، هیدرات‌های کربن محلول، پروتئین‌های محلول، هدایت الکترولیتی غشاء، مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بررسی شد. نتایج نشان داد پیش تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف نیترو پروساید سدیم، از کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی تحت تنش خشکی جلوگیری نمود. به طوری که در پتانسیل -۰/۶ - مگاپاسکال، پیش تیمار بذرها با ۷۵ میکرومولار نیترو پروساید سدیم سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی، شاخص بینه بذر، قندها و پروتئین‌های محلول به ترتیب به میزان ۲۵، ۲۱۴/۱، ۹۰/۸، ۱۱۷/۱ درصد و برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز به ترتیب حدود ۳۴، ۱۴/۵ و ۴۱/۴ درصد نسبت به شاهد گردید. بنابراین پیش تیمار نیتروپروساید سدیم به ویژه با غلظت ۷۵ میکرومولار به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از زوال و خشکی برای کدوی پوست کاغذی قابل توصیه است.

**کلمات کلیدی:** پیش تیمار، جوانه‌زنی، زوال بذر، کدوی پوست کاغذی، نیترو پروساید سدیم

## Seed priming with SNP improves the performance of aged pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds under drought stress

H. R. Rouhi<sup>1\*</sup>, A. Moradi<sup>2</sup>, M. Saman<sup>3</sup>, A. Shahbodaghlo<sup>4</sup>, Y. Mohammadi<sup>5</sup>

1. Bu-Ali Sina University, Faculty of Agriculture, Department of Agronomy and Plant Breeding, Hamedan, Iran

2. Yasouj University, Faculty of Agriculture, Department of Agronomy, Yasouj, Iran

3. Payame Noor University, Department of Agricultural Sciences, Tehran, Iran

4. Research Expert, Bu-Ali Sina University, Faculty of Agriculture, Department of Horticultural Sciences, Hamedan, Iran

5. Former M.Sc student of Seed Science and Technology, Department of Agronomy, Tehran University, Karaj, Iran

(Received: Jul. 01, 2017 – Accepted: Nov. 29, 2017)

### Abstract

In order to investigate the effect of sodium nitroprusside (NO donor) on improvement of aged pumpkin seeds under drought stress, a factorial experiment was carried out based on completely randomized design with three replications in Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. Seed priming with different concentrations of sodium nitroprusside including 0 (hydropriming), 25, 50 and 75  $\mu$ M in drought stress levels (0, -0.2, -0.46 and -0.6 MPa) was performed. Germination percentage, germination rate, seed vigor, seedling length, soluble carbohydrates, soluble proteins, membrane electrical conductivity, malondialdehyde content and antioxidant enzymes activity (catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase) were evaluated. The results showed that seed priming with different concentrations of sodium nitroprusside mitigated significant decrease of germination parameters of aged seeds under drought stress. At -0.6 MPa, seed priming with 75  $\mu$ M of sodium nitroprusside increased germination rate, vigor index, soluble carbohydrates and proteins 25, 214.1, 90.8, 117.1%, as well as the activity of catalase, superoxide dismutase and ascorbate peroxidase increased by 34, 14.5, 41.4% in comparison to control, respectively. Therefore, seed priming with sodium nitroprusside specially with 75  $\mu$ M is suggested for aged pumpkin seeds by decreasing oxidative stress due to drought stress.

**Key words:** germination, pumpkin, seed deterioration, seed priming, sodium nitroprusside

\* Email: hosseinroohi@alumni.ut.ac.ir

## مقدمه

کدوی پوست کاغذی (*Cucurbita pepo* L.) از گیاهان دارویی ارزشمند در صنایع داروسازی اکثر کشورهای توسعه یافته است و میزان روغن موجود در بذر باتوجه به ژنوتیپ بین ۳۰ تا ۵۰ درصد می باشد. سطح زیر کشت این گیاه در ایران ۱۸۰ هکتار می باشد (Hamzei and Babaei, 2015). مواد موثره مورد نیاز در داروسازی نوین که در بذره‌های کدوی پوست کاغذی وجود دارند، شامل فیتوسترول، فلاونوئید، اسیدهای چرب، ویتامین A و E و مواد معدنی هستند (Sedghi et al., 2008). اکسیداسیون سریع اسیدهای چرب غیراشباع قابلیت نگهداری بذره‌های روغنی را کاهش داده و منجر به تسریع در فرآیند نامطلوب زوال و کاهش کیفیت فیزیولوژیکی بذر در طول دوره انبارداری می گردد (Jyoti and Malik, 2013). با این تفصیل زوال بذر را می توان در زمره عوامل مهم خسارتزا در چرخه تولید محصولات زراعی به حساب آورد. در برخی گزارش‌ها میزان این خسارت در چرخه تولید گیاهان زراعی تا ۲۵ درصد برآورد شده است که در گیاهان روغنی شدت این خسارت افزایش می یابد (Tabatabae, 2013; Hou et al., 2014).

از سوی دیگر خشکی به عنوان یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان زراعی فشار مضاعفی را در خصوص جوانه زنی، سبز شدن و بنیه بذره‌های زوال یافته ایجاد می کند (Jisha et al., 2013). به طوری که در بذره‌های زوال یافته، جوانه زنی، ظاهر شدن و رشد گیاهچه با مشکل جدی مواجه می شود (Kapoor et al., 2010).

نیترپروپوساید سدیم (SNP) ترکیب آزاد کننده اکسید نیترژن (NO) بوده و نقش‌های متعددی در رشد و توسعه گیاهان بازی می کند (Tanou et al., 2009). اکسید نیترژن، یک مولکول فعال زیستی است که در تنظیم بسیاری از کارکردهای متنوع سلولی در گیاه از محدوده

رشد ریشه تا پاسخ‌های سازشی به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش ایفا می کند (Liu et al., 2013). گزارش شده که اکسید نیترژن می تواند در واکنش با گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، نقش مهمی در محافظت گیاهان از تنش‌های اکسیداتیو داشته باشد (Zheng et al., 2009). بدلیل خاصیت لیوفیلی می تواند به راحتی در غشاء حرکت کرده و به عنوان یک پیام‌رسان درون و بین سلولی عمل نماید و فرآیندهای فیزیولوژیکی و شیمیایی مختلفی مانند جوانه زنی، خواب بذر، رشد و نمو، پیری، تنفس، فتوسنتز، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و بسیاری از دیگر فرآیندها را در گیاه تنظیم کند (Besson-Bard et al., 2008; Zheng et al., 2009). در بیشتر مطالعات محققین سعی دارند نقش اکسید نیترژن را در تخفیف اثرات منفی تنش‌های محیطی اعم از زنده و غیرزنده به طور کامل و با جزئیات بیشتر مورد ارزیابی قرار دهند. به عنوان مثال مانایی و همکاران (Manai et al., 2014) اذعان نمودند کاربرد خارجی نیترپروپوساید سدیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز سبب کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی شد. ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2012) نیز با کاربرد ۱۰۰ میکرومولار از نیترپروپوساید سدیم روی ذرت توانستند شدت تنش خشکی را کاهش دهند. تحقیقات همچنین نشان داده که اکسید نیترژن در جریان فرآیند جوانه زنی دارای اثرات هم افزایی مثبت با هورمون‌هایی نظیر جیبرلین و اتیلن بود درحالی که روی اسید آبسزیک اثر بازدارنده داشت که رابطه‌ای هم افزایی منفی است، بنابراین می توان گفت که اکسید نیترژن قادر به تحریک فرآیند جوانه‌زنی بذور است (Sirova et al., 2011). با توجه به اثر منفی زوال و خشکی بر محتوای روغن کدوی پوست کاغذی و اینکه اثر توأم عوامل مذکور روی این گیاه گزارش نشده است، هدف از پژوهش حاضر، یافتن

راهکاری جهت ارتقاء جوانه زنی و کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال کدوی پوست کاغذی و کاهش اثر سوء ناشی از تنش خشکی با استفاده از پیش تیمار نیتروپروپوساید سدیم بوده است.

## مواد و روش ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان با استفاده از کدوی پوست کاغذی انجام شد. بذرهای مورد استفاده از شرکت پاکان بذر اصفهان در سال ۱۳۹۵ تهیه شد. قوه نامیه بذرهای مورد آزمایش قبل از اعمال پیری تسریع شده براساس آزمون جوانه زنی استاندارد، به روش بین کاغذ (Between paper) به مدت ۸ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مورد ارزیابی قرار گرفت (ISTA, 2007) و مشخص شد که قوه نامیه بذرهای ۹۸ درصد بود. برای انجام پیری تسریع شده، ۱۰۰ عدد بذر روی توری های فلزی در ظروف مخصوص و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Delouche and Baskin, 1973). سپس بذرهای پیر شده در محلولی با غلظت های صفر (پیش تیمار شده با آب)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرومولار از نیتروپروپوساید سدیم به مدت ۱۰ ساعت قرار گرفتند. به دنبال آن بذرهای پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. سپس نیمی از بذرهای جهت آزمون هدایت الکتریکی و نیمی دیگر برای آزمون جوانه زنی استاندارد استفاده شدند. به منظور اعمال تنش خشکی از محلول پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در غلظت های صفر (آب مقطر)، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ مگاپاسکال (MPa) استفاده شد (Michel and Kaufmann, 1973). خروج ریشه چه به اندازه دو میلی متر به عنوان معیار جوانه زنی بذرهای در نظر گرفته شد (ISTA, 2007). در پایان آزمایش طول گیاهچه اندازه گیری شد و نمونه گیری به منظور تعیین پارامترهای فیزیولوژیکی مورد نظر صورت گرفت. درصد

جوانه زنی نهایی (final germination percentage) از رابطه (۱) محاسبه شد (Yan, 2015):

$$FGP = \left(\frac{N_i}{N}\right) \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه زده در روز آخر شمارش، N: تعداد کل بذرهای

سرعت جوانه زنی (germination rate) با استفاده از رابطه (۲) محاسبه شد (Ellis and Roberts, 1981):

$$GR = 1/\sum f_i/n_i \quad (\text{رابطه ۲})$$

در رابطه فوق GR سرعت جوانه زنی است که با معکوس کردن متوسط زمان جوانه زنی (mean germination time) بدست آمد. fi روز از آغاز جوانه زنی، ni تعداد بذرهای جوانه زده در روز و N مجموع بذرهای جوانه زده می باشد.

شاخص طولی بنیه گیاهچه (VI) نیز از رابطه (۳) محاسبه شد (Sepahri and Rouhi, 2016):

$$VI = \sum(FGP \times SL)/100 \quad (\text{رابطه ۳})$$

FGP: درصد جوانه زنی نهایی، SL: طول گیاهچه اندازه گیری هدایت الکتریکی محلول بذرهای با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (CyberScan PC 510) انجام شد. برای این منظور از ۵۰ بذر در سه تکرار برای هر تیمار استفاده گردید. ابتدا وزن خشک بذرهای توسط ترازوی با دقت یک صدم گرم (Sartorius BA310S) اندازه گیری شد. سپس بذرهای حاوی ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر منتقل و توسط فویل آلومینیومی پوشانده و در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از ژرمیناتور خارج و محلول به آرامی به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه همزده شد، دمای محلول زمان اندازه گیری هدایت الکتریکی ۲۵ درجه سانتی گراد بود. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تعیین و از

نرمال کردن داده‌های درصد جوانه زنی استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS، 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### درصد جوانه‌زنی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی تنش خشکی و پیش تیمار به همراه اثر متقابل آن‌ها بر درصد جوانه زنی در سطح احتمال یک درصد معنی دار است (جدول ۱). در شرایط بدون تنش، بیشترین درصد جوانه زنی به بذور پیش تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تعلق داشت که اختلاف معنی داری با پیش تیمار با آب مقطر و غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم نداشت، اما تفاوت آن با غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و شاهد معنی دار بود (جدول ۲). کمترین درصد جوانه زنی در تنش صفر نیز به بذور پیش تیمار نشده تعلق داشت. تنش خشکی باعث کاهش معنی دار درصد جوانه زنی در بذور پیش تیمار شده و پیش تیمار نشده گردید و با افزایش شدت تنش درصد جوانه زنی کاهش بیشتری یافت اما روند افت درصد جوانه زنی بذور پیش تیمار شده نسبت به بذور پرایم نشده کمتر بود (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال، بالاترین درصد جوانه‌زنی در پیش تیمار با سطح سوم نیتروپروساید سدیم مشاهده شد. بین پیش تیمار با غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش تیمار با آب مقطر از یک سو و بین پیش تیمار با آب مقطر و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم از سوی دیگر اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). این در حالی بود که اختلاف بین پیش تیمار با سطح اول نیتروپروساید سدیم و بذور پیش تیمار نشده معنی دار نبود. در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین سطوح ۷۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و همچنین بین پیش تیمار با آب مقطر

مقدار هدایت الکتریکی حاصل از هر تیمار کسر شد (Hampton and TeKrony, 1995). میزان هدایت الکتریکی بر حسب وزن بذر مربوط برای هر نمونه با استفاده از رابطه (۴) تعیین گردید:

$$\text{هدایت الکتریکی (رابطه ۴)} = \frac{\text{هدایت الکتریکی آب مقطر } (\mu\text{S.cm}^{-1}) - \text{هدایت الکتریکی محلول بذر } (\mu\text{S.cm}^{-1})}{\text{وزن بذر (g)}}$$

اندازه گیری قندهای محلول به روش ایری گوین و همکاران (Irigoyen *et al.*, 1992) انجام شد. پروتئین‌های محلول به روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین و اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید (شاخص آسیب به غشاء) به روش کاوال کانتی (Cavalcanti *et al.*, 2004) صورت گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز (با ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی مول بر سانتی متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان مصرف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد و به صورت واحد آنزیم (یک میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه) بر میلی گرم پروتئین بیان گردید (Cakmak and Horst, 1991). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر به صورت واحد آنزیم (یک واحد سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در دقیقه) بر میلی گرم پروتئین گزارش شد (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (با ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مول بر سانتی متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه گیری و به صورت واحد آنزیم (یک میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه) بر میلی گرم پروتئین گزارش گردید (Nakano and Asada, 1981).

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام و از تبدیل آرک سینوس (arcsin) جهت

پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی در سطح سلول باشد که سبب القای سنتز هورمون‌های محرک جوانه‌زنی مانند جیبرلین و اتیلن می‌شوند (Varier *et al.*, 2010; Sirova *et al.*, 2011). در این راستا آرک و همکاران (Arc *et al.*, 2013) افزایش درصد جوانه‌زنی بذور در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم را به علت نقش اکسیدنیتروژن در کاتابولیسم هورمون آبسزیک اسید و تحریک مسیر سیگنالی هورمون اتیلن ذکر کرده‌اند که سبب افزایش تولید پیش‌ساز هورمون اتیلن شده و به تبع آن جوانه‌زنی تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد. همچنین حیات و همکاران (Hayat *et al.*, 2014) اظهار داشتند پیش‌تیمار نیتروپروساید سدیم در بذره‌های گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) قادر است درصد جوانه‌زنی را به علت فعال‌سازی آنزیم بتا دی‌گلوکاناز و تحریک مسیر بیوسنتزی هورمون جیبرلین افزایش دهد.

و سطوح ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تفاوت آماری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، بیشترین درصد جوانه‌زنی به بذور پیش‌تیمار شده با بالاترین غلظت نیتروپروساید سدیم تعلق داشت و درصد جوانه‌زنی را ۸۹ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۲). بین غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش‌تیمار با آب مقطر تفاوتی به لحاظ آماری مشاهده نشد، ضمن آن‌که بین پیش‌تیمار با آب مقطر و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم نیز اختلافی دیده نشد (جدول ۲). فو و همکاران (Fu *et al.*, 2015) اظهار داشتند، کاهش کیفیت فیزیوژنیک و قوه نامیه از علائم زوال بذر محسوب می‌شود. از آنجا که اکسیدنیتروژن نقش واسط در مسیرهای سیگنالی تنش را در سلول به‌عهده دارد، افزایش درصد جوانه‌زنی بذور پیرشده در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم، می‌تواند به دلیل افزایش

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذره‌های پیرشده کدوی پوست کاغذی

Table 1- The ANOVA of germination characteristics of aged pumpkin seeds

منبع تغییرات S.O.V	df	میانگین مربعات Mean Squares											
		GP	GR	SL	VI	EC	Car	Pr	MDA	CAT	SOD	APX	
پیش‌تیمار Priming	4	605.30**	0.007**	5.99**	5.12**	181.60**	73.01**	11.17**	285.57**	0.012**	44.32**	0.01**	
تنش Stress	3	4622.26**	0.08**	92.25**	72.96**	260.13**	1673.35**	162.16**	5033.26**	0.035**	356.12**	0.05**	
پیش‌تیمار * تنش Priming*Stress	12	38.97**	0.003**	1.38**	1.81**	1.98**	17.88**	1.43**	39.77**	0.0006**	7.69**	0.001**	
خطا Error	40	3.50	0.00006	0.001	0.006	0.175	0.16	0.02	1.28	0.00007	0.08	0.00009	
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	4.88	2.63	1.02	3.91	2.05	3.50	3.80	1.98	4.03	1.43	3.30	

به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و بدون اختلاف معنی‌دار ns, \*\*, \*.

مالون: Pr: پروتئین‌های محلول، Car: قندهای محلول، EC: هدایت الکتریکی، VI: شاخص‌نیه‌طولی گیاهچه، SL: طول گیاهچه، GR: سرعت جوانه‌زنی، GP: درصد جوانه‌زنی، APX: آسکوربات پراکسیداز، SOD: سوپراکسیددیسموتاز، CAT: کاتالاز، MDA: دی‌آلدهید،

ns, \*\*, \* Respectively non-significant and significant of 1 and 5 percent of probability

S.O.V: Source of Variation, df: degree of freedom, CV: Coefficient of Variation, GP: Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, GR: Germination Rate, SL: Seedling Length, VI: Vigor Index, EC: Electrical conductivity, SS: Soluble sugars, Pr: Protein content, MDA: Malondialdehyde content, CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار بذر بر خصوصیات مورفولوژیک بذرهای پیر شده کدوی پوست کاغذی تحت شرایط تنش خشکی

Table 2- Mean comparison of seed priming effect on morphological characteristics of aged pumpkin seed under drought stress conditions

تیمارها Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	درصد جوانه زنی Germination Percentage	سرعت جوانه زنی Germination Rate (1/day)	طول گیاهچه Seedling Length (cm)	شاخص بنیه Vigor Index
نیتروپروساید سدیم	0	61.33 b	0.246 b	8.35 c	5.12 c
۲۵ میکرومولار SNP	-0.2	32.66 h	0.107 e-h	3.30 h	1.09 hi
۲۵ میکرومولار SNP	-0.4	27.10 hij	0.099 f-i	2.90 jk	0.78 jk
۲۵ میکرومولار SNP	-0.6	22.10 kl	0.094 ghi	2.22 m	0.48 lm
نیتروپروساید سدیم	0	70.66 a	0.304 a	8.72 b	6.15 b
۵۰ میکرومولار SNP	-0.2	38.10 d	0.118 de	3.72 f	1.41 f
۵۰ میکرومولار SNP	-0.4	34.33 def	0.110 efg	3.35 gh	1.15 gh
۵۰ میکرومولار SNP	-0.6	28.66 ghi	0.102 e-i	2.83 k	0.81 j
نیتروپروساید سدیم	0	74.66 a	0.320 a	9.13 a	6.82 a
۷۵ میکرومولار SNP	-0.2	44.33 c	0.132 cd	3.97 e	1.75 e
۷۵ میکرومولار SNP	-0.4	37.66 d	0.116 def	3.43 g	1.29 fg
۷۵ میکرومولار SNP	-0.6	35.33 de	0.105 e-h	3.03 i	1.07 hi
پیش تیمار با آب Hydro-priming	0	71.33 a	0.236 b	8.77 b	6.28 b
پیش تیمار با آب Hydro-priming	-0.2	33.80 def	0.106 e-h	3.43 g	1.17 cd
پیش تیمار با آب Hydro-priming	-0.4	30.33 fgh	0.099 f-i	3.02 i	0.91 ij
پیش تیمار با آب Hydro-priming	-0.6	24.90 ijk	0.093 ghi	2.42 l	0.61 kl
شاهد nonprime	0	45.66 c	0.138 c	5.01 d	2.31 d
شاهد nonprime	-0.2	28.80 ghi	0.100 e-h	2.97 ij	0.85 j
شاهد nonprime	-0.4	24.00 jk	0.091 hi	2.40 l	0.78 jk
شاهد nonprime	-0.6	18.66 l	0.083 i	1.90 n	0.48 lm

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد با آزمون LSD ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the  $P < 0.05$  level

که از یک سو بین غلظت‌های ۷۵ و ۵۰ میکرومولار

نیتروپروساید سدیم و از سوی دیگر بین غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش تیمار با آب تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش معنی دار سرعت جوانه زنی بذور مورد بررسی شد. در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بین سطوح ۷۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم از یک طرف و بین غلظت‌های ۵۰، ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم،

### سرعت جوانه زنی

با توجه به معنی دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش در پیش تیمار (جدول ۱)، مشخص گردید که در شرایط بدون تنش، بالاترین سرعت جوانه زنی به ترتیب در غلظت‌های ۷۵، ۵۰ و ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش تیمار با آب حاصل گردید، به طوری که سرعت جوانه زنی به ترتیب ۱/۳۰، ۱/۱۸، ۰/۷۶ و ۰/۶۹ برابر نسبت به عدم پرایم افزایش یافت (جدول ۲). این در حالی بود

پیش تیمار با آب و بذور پیش تیمار نشده از طرف دیگر اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین هیچ بک از تیمارها از نظر سرعت جوانه زنی تفاوت معنی داری ثبت نشد، هرچند که اختلاف بین غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم، پیش تیمار با آب و شاهد معنی دار نبود (جدول ۲). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال نیز وضعیت کاملاً مشابه پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال بود (جدول ۲). مطالعات نشان داده که زوال بذر موجب کاهش معنی دار سرعت جوانه زنی و بنیه بذر به ویژه در دانه‌های روغنی می‌گردد (Tabatabaei, 2013; Yin et al., 2015; Fu et al., 2015). از سوی دیگر پرایمینگ بذر امکان ترمیم قسمت‌های آسیب دیده در جریان زوال و سایر تنش‌های اکسیداتیو را فراهم می‌کند تا از شدت خسارات وارد شده تا حد امکان کاسته شود (Varier et al., 2010; Jisha et al., 2013). پترکوا و همکاران (Piterkova et al., 2012) گزارش کردند که پیش تیمار اکسید نیتروژن سبب بهبود سرعت جوانه زنی بذره‌های گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) در مقایسه با بذره‌های پرایم نشده تحت تنش خشکی شد. آن‌ها همچنین اظهار داشتند که کاربرد بازدارنده اکسید نیتروژن سرعت جوانه زنی را به شدت کاهش داد. رحمان و همکاران (Rehman et al., 2015). کاهش درصد و سرعت جوانه زنی بذره‌های پیر شده ذرت را ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز دانستند. سیرووا و همکاران (Sirova et al., 2011) بهبود سرعت جوانه زنی بذور در نتیجه پیش تیمار با اکسید نیتروژن را ناشی از القای سنتز پروتئین‌های مرتبط با مسیر سیگنالی هورمون‌های رشد نظیر جیبرلین و اتیلن ذکر کردند. به نظر می‌رسد بهبود سرعت جوانه زنی بذور پرایم شده با نیتروپروساید سدیم به دلیل افزایش در سنتز هورمون جیبرلین باشد زیرا با افزایش محتوای جیبرلین، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و به تبع آن سرعت تجزیه پلی ساکاریدها افزایش یافته که نتیجه آن تسریع در انتقال قندهای محلول به جنین در حال رشد می‌باشد. در این راستا حیات و همکاران

(Hayat et al., 2014) گزارش کردند، پیش تیمار بذور گوجه فرنگی با نیتروپروساید سدیم سبب افزایش درصد جوانه زنی این گیاه شد. در کلزا زاناردو و همکاران (Zanardo et al., 2005) بیان داشتند پیش تیمار بذور با غلظت‌های پایین ۰/۰۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیترو پروساید سدیم باعث افزایش درصد جوانه زنی شد.

### طول گیاهچه

بررسی داده‌های طول گیاهچه نشان داد اثر متقابل پیش تیمار و خشکی به همراه اثرات اصلی در سطح احتمال یک درصد معنی دار است (جدول ۱). مشخص گردید که در شرایط بدون تنش، پیش تیمار نیتروپروساید سدیم با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ میکرومولار و هیدروپرایمینگ به ترتیب طول گیاهچه را نسبت به عدم پرایم ۶۷، ۷۴/۴۰، ۸۲/۶۰، ۷۵/۴۰ درصد افزایش دادند (جدول ۲). تحت شرایط خشکی، اگرچه پیش تیمار بذور با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم، طول گیاهچه بیشتری را در مقایسه با سایر تیمارها و بذور پرایم نشده در تمامی سطوح تنشی ایجاد کرد اما در خشکی ۰/۴- مگاپاسکال، اختلاف معنی داری با غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم نداشت (جدول ۲). کاهش طول گیاهچه در شرایط تنش را می‌توان به کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین نسبت داد. از آن جا که یکی از اثرات اکسید نیتروژن کاتابولیسم اسیدآبسیزیک و تحریک سنتز هورمون‌هایی نظیر اتیلن و جیبرلین است، به نظر می‌رسد افزایش تقسیم سلولی گیاهچه در بذور پرایم شده تحت شرایط تنش ناشی از افزایش غلظت جیبرلین درون سلولی باشد. این هورمون می‌تواند آسیب‌های وارده به سلول‌ها در نتیجه زوال را کاهش داده و تقسیم سلول در ساقه‌چه را تحریک نماید (Li et al., 2013). همچنین مشخص شده که تنظیم بیان ژن‌های آکواپورین در بذره‌های برنج توسط مسیر سیگنالی اکسید نیتروژن می‌باشد (Liu et al., 2007). تیمار بذور برنج با نیتروپروساید سدیم سبب افزایش در بیان ژن‌های کد کننده

سرعت انتقال پروتئین‌های ذخیره‌ای به جنین در حال رشد را افزایش داده و از این طریق بینه بذر و استقرار گیاهچه افزایش می‌یابد (Qiao *et al.*, 2014). پژوهشگران علت آن را تغییرات ویژه در الگوی کربونیل‌سیون دانسته‌اند (Job *et al.*, 2005; Tanu *et al.*, 2009; Qiao *et al.*, 2014).

### آزمون نشت الکترولیتی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثرات اصلی و اثر متقابل را در سطح یک درصد برای نشت الکترولیتی نشان داد (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین میزان نشت الکترولیتی را بذور پرایم نشده از خود نشان دادند و در بین تیمارهای پرایمینگ، بیشترین میزان نشت الکترولیتی مربوط به پیش تیمار با آب بود (جدول ۳). کمترین مقدار هدایت الکتریکی بذر در شرایط عدم تنش متعلق به بذور پرایم شده با ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بود که با مقادیر حاصل از سایر تیمارها و بذور پیش تیمار نشده اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳). با افزایش شدت تنش نشت الکترولیتی در بذور پیش تیمار شده و پیش تیمار نشده افزایش یافت اما پیش تیمار بذور به‌ویژه با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم اثر منفی تنش را تا اندازه بیشتری نسبت به سایر غلظت‌ها و پیش تیمار با آب خنثی نمود (جدول ۳)، به طوری که بیشترین مقدار نشت الکترولیتی متعلق به بذور پرایم نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال بود (جدول ۳). کمترین مقادیر نشت الکترولیتی نیز به ترتیب در غلظت‌های ۵۰، ۷۵، ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش تیمار با آب ثبت گردید. نتایج این آزمایش نشان داد کاربرد نیتروپروساید سدیم به‌عنوان پیش تیمار قادر است صدمات وارده به غشاء سلول را که در نتیجه زوال و خشکی ایجاد شده کاهش دهد و پیامد آن کاهش در نشت الکترولیتی بذر می‌باشد. این مساله می‌تواند ناشی از ارتقاء سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه باشد. گارسیاماتا و لاماتینا (Garcia-Mata and Lamattina, 2001) نشان دادند کاربرد اکسید نیتروژن در گیاه گندم تحت تنش

آکواپورین‌ها شد که این مساله بهبود جذب آب در جریان آبنوشی را در کنار بهبود رشد و نمو سلول‌ها به‌همراه داشت (Liu *et al.*, 2007). بهبود رشد گیاهچه ارزن (*Panicum virgatum*) در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم به میزان ۲۰۰ میکرومولار گزارش شده است (Sarath *et al.*, 2007).

### شاخص طولی بینه گیاهچه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثرات اصلی پرایمینگ و تنش و برهم‌کنش آن‌ها را در سطح یک درصد برای شاخص بینه نشان داد (جدول ۱). شاخص بینه بذر در شرایط بدون تنش بیشتر از تنش بود و بیشترین مقدار به بالاترین غلظت نیتروپروساید سدیم اختصاص داشت که با سایر تیمارها و همچنین بذور پیش تیمار نشده تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بیشترین شاخص بینه به ترتیب در غلظت‌های سوم و دوم نیتروپروساید سدیم، هیدروپرایمینگ و غلظت اول نیتروپروساید سدیم بدست آمد (جدول ۲). این در حالی بود که اختلاف بین هیدروپرایمینگ و غلظت اول نیتروپروساید سدیم معنی‌دار نبود. در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بالاترین شاخص بینه در پیش تیمار با ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم نداشت اما اختلاف آن با سایر تیمارها و شاهد معنی‌دار بود (جدول ۲). در این سطح از خشکی، بین هیدروپرایمینگ و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال، نتایج مشابه خشکی ۰/۲- مگاپاسکال بود. لی و همکاران (Li *et al.*, 2013) اظهار داشتند که پیش تیمار نیتروپروساید سدیم به‌میزان ۱۰۰ میکرومولار روی بذور گندم سبب بهبود شاخص جوانه‌زنی بذر گردید. سایر محققین بیان داشتند که کاربرد خارجی نیتروپروساید سدیم به‌دلیل اثر سینرژیستی روی پراکسید هیدروژن،



سبب فعال شدن مسیر سیگنالی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده و از طریق زدودن گونه‌های فعال اکسیژن، انسجام غشا را افزایش می‌دهد. این محققین همچنین گزارش کردند، اکسید نیتروژن با افزایش در مواد تنظیم کننده اسمزی مانع از نشت مواد به بیرون می‌شود.

خشکی، مقدار نشت یونی را کاهش داده و گیاه را در مقابل آسیب‌های بوجود آمده از خشکی محافظت می‌کند. لیو و همکاران (Li *et al.*, 2013) نیز نیتروپروساید سدیم را تیماری موثر در جهت کاهش هدایت الکتریکی پنبه در مقایسه با گروه شاهد، تحت تنش اکسیداتیو دانستند. آن‌ها اظهار داشتند اکسید نیتروژن

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار بذر بر خصوصیات فیزیولوژیک بذره‌های پیر شده کدوی پوست کاغذی تحت تنش شرایط خشکی

Table 3- Mean comparison of seed priming effect on physiological characteristics of aged pumpkin seed under drought stress conditions

تیمارهای پیش جوانه‌دار Priming Treatments	تنش خشکی Drought Stress (MPa)	نشت الکترولیتی Electrolyte leakage ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	قندهای محلول Carbohydrates (mg.[gdw] $^{-1}$ )	پروتئین‌های محلول Soluble proteins (mg.[gdw] $^{-1}$ )	محتوای مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde content (nmol.[gdw] $^{-1}$ )	فعالیت کاتالاز Catalase (Units[mgpr $^{-1}$ ])	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase (Units[mgpr $^{-1}$ ])	فعالیت آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (Units[mgpr $^{-1}$ ])
نیتروپروساید سدیم ۲۵ میکرومولار SNP 25 $\mu\text{M}$	0	18.32 l	25.68 c	9.03 c	27.54 l	0.278 c	27.95 c	0.372 b
	-0.2	26.48 f	7.83 gh	1.97 ij	61.73 ghi	0.189 h-k	18.31 g	0.265 f
	-0.4	28.30 e	5.61 kl	1.74 jk	66.41 de	0.186 ijk	17.41 hi	0.249 fg
	-0.6	28.96 de	3.59 m	1.58 k	71.44 b	0.174 kl	16.41 j	0.235 g
نیتروپروساید سدیم ۵۰ میکرومولار SNP 50 $\mu\text{M}$	0	17.73 l	29.31 b	9.43 b	25.31 lm	0.314 b	31.23 a	0.381 b
	-0.2	24.06 hi	8.58 fg	2.73 fg	59.63 i	0.207 fgh	21.06 d	0.267 ef
	-0.4	25.16 g	6.92 ij	2.08 i	63.01 fg	0.204 ghi	19.87 ef	0.253 fg
	-0.6	27.13 f	4.87 l	1.16 l	68.54 cd	0.194 hij	18.01 gh	0.241 g
نیتروپروساید سدیم ۷۵ میکرومولار SNP 75 $\mu\text{M}$	0	15.11 m	33.96 a	10.11 a	23.67 m	0.337 a	28.91 b	0.432 a
	-0.2	21.94 j	11.27 e	3.48 e	55.76 j	0.235 e	19.27 f	0.337 c
	-0.4	23.13 i	8.84 f	2.97 f	60.36 hi	0.225 ef	18.37 g	0.324 c
	-0.6	24.26 gh	6.03 jk	2.42 h	64.84 ef	0.205 gh	17.37 i	0.295 d
پیش تیمار با آب Hydro-priming	0	20.13 k	29.66 b	9.08 c	24.69 m	0.257 d	28.36 bc	0.416 a
	-0.2	26.74 f	7.82 gh	2.98 f	62.51 fgh	0.166 lmn	18.01 gh	0.265 f
	-0.4	29.69 d	6.52 ij	2.49 gh	65.73 e	0.153 mn	17.52 hi	0.253 fg
	-0.6	31.15 c	3.89 m	2.04 ij	70.64 bc	0.125 o	16.06 j	0.234 g
شاهد nonprime	0	26.85 f	17.94 d	5.38 d	46.76 k	0.215 fg	20.22 e	0.287 de
	-0.2	32.25 b	7.09 hi	1.09 l	64.11 efg	0.180 jkl	17.57 hi	0.249 fg
	-0.4	33.26 ab	4.93 l	1.02 l	70.55 bc	0.172 klm	16.06 j	0.233 g
	-0.6	34.04 a	3.16 m	1.11 l	75.73 a	0.153 n	15.17 k	0.208 h

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the  $P < 0.01$  level

## قندهای محلول

با توجه به معنی دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل دوگانه (جدول ۱)، نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش بیشترین مقدار قندهای محلول در بذرهاى پيش تیمار شده و کمترین مقدار در بذور پيش تیمار نشده بدست آمد (جدول ۳). در این میان نیتروپروساید سدیم با غلظت ۷۵ میکرومولار مقادیر بیشتری را نسبت به سایر تیمارها و بذور پيش تیمار نشده از خود نشان داد. در خشکی صفر، پيش تیمار با آب و پيش تیمار نیتروپروساید سدیم با غلظت ۵۰ میکرومولار تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند اما مقادیر بیشتری را نسبت به غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و عدم پرایم از خود نشان دادند (جدول ۳). بالاترین میزان قندهای محلول در تمامی سطوح خشکی مربوط به تیمار ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بود که با سایر تیمارها و بذور پيش تیمار نشده به لحاظ آماری تفاوت داشت (جدول ۳). یکی از علائم زوال بذر کاهش انسجام غشای سلولی و کاهش در قابلیت نفوذپذیری انتخابی آن است. این رویداد امکان نشت مواد از غشاء را تشدید می کند که نشت کربوهیدراتهای محلول نیز از جمله آنها است (Jyoti and Malik, 2013; Fu *et al.*, 2015). تحقیقات نشان داده اکسید نیتروژن با کاتابولیسم هورمون اسید آبسزیک از یک سو و با فعال سازی سنتز پيش ساز سنتز هورمون اتیلن از سوی دیگر سبب تسریع در فرآیند جوانه زنی می گردد (Qiao *et al.*, 2014). با توجه به این که اثر هورمون اتیلن در فرآیند جوانه زنی با هورمونهای جیبرلین، اکسین و سیتوکینین سینرژیستی می باشد، اکسید نیتروژن با القای سنتز جیبرلین و به تبع آن فعالیت آنزیمهای آمیلاز، قادر است محتوای قندهای ساده و محلول بذر را به صورت غیرمستقیم افزایش دهد (Miransari and Smith, 2014; Qiao *et al.*, 2014). همچنین مشخص شده که اکسید نیتروژن با شکستن باندهای دی سولفیدی بتا آمیلاز قادر است فعالیت این آنزیم را در گندم افزایش دهد و با این کار سرعت تجزیه

نشاسته و به تبع آن تولید قندهای ساده و محلول را افزایش دهد (Wu *et al.*, 2011).

## پروتئین های محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل خشکی و پرایمینگ بر پروتئین های محلول در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بین مقادیر بدست آمده از پيش تیمار با آب و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم اختلاف معنی داری مشاهده نشد، اما میزان پروتئین های محلول در غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بیشتر از سایر تیمارها و عدم پيش تیمار بود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش مقدار پروتئین های محلول کاهش یافت و کمترین میزان را بذور پيش تیمار نشده نشان دادند (جدول ۳). در تمامی سطوح خشکی، بیشترین مقادیر پروتئین های محلول در پرایمینگ توسط ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم مشاهده شد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها و بذور پيش تیمار نشده داشت (جدول ۳). کاهش در مقدار پروتئین ها در فرآیند زوال ناشی از دنا توره شدن آنها و یا آسیب های غیرقابل بازگشت به ساختار پروتئین ها به دلیل حمله رادیکال های آزاد می باشد، پيش تیمار بذر از طریق سنتز پروتئین های جدید قادر است این آسیب را کاهش دهد (Kibinza *et al.*, 2011; Tabatabaei, 2013). اسدی صنم و همکاران (Asadi-Sanam *et al.*, 2015) گزارش کردند کاربرد نیتروپروساید سدیم سبب افزایش پروتئین های محلول در برنج تحت تنش اکسیداتیو شد. آنها علت این امر را افزایش در سنتز پروتئین ها و ممانعت از دنا توره شدن آنها در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم ذکر کردند.

## محتوای مالون دی آلدهید

اثر اصلی تنش خشکی و پيش تیمار و اثر متقابل آنها بر محتوای مالون دی آلدهید در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین مقدار مالون دی آلدهید به بذور پيش تیمار نشده اختصاص داشت و

### کاتالاز

با توجه به معنی دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش و پرایمینگ (جدول ۱)، مقایسه میانگین داده‌های آنزیم کاتالاز نشان داد که در شرایط بدون تنش فعالیت این آنزیم در تمام تیمارها بیشتر از بدون پیش تیمار بود (جدول ۳). به طوری که پیش تیمار با آب و غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم فعالیت کاتالاز را به ترتیب ۱۹/۵۳، ۲۹/۳۰، ۴۶/۰۴ و ۵۵/۸۱ درصد نسبت به بذور پیش تیمار نشده افزایش داد (جدول ۳). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال کمترین فعالیت کاتالاز در بذور پرایم نشده مشاهده شد که اختلاف معنی داری با مقادیر حاصل از کاربرد ۲۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم و پیش تیمار با آب نداشت (جدول ۳). بیشترین فعالیت کاتالاز در غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم ثبت شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت و توانست فعالیت کاتالاز را ۳۰/۵۵ درصد نسبت به عدم پرایم افزایش دهد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال نیز وضعیت مشابه پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال بود. در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال، اگرچه بیشترین فعالیت کاتالاز در پرایمینگ با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم حاصل شد اما تفاوت معنی داری با غلظت دوم نیتروپرووساید سدیم از خود نشان نداد (جدول ۳). این در حالی بود که بین غلظت‌های اول و دوم نیتروپرووساید سدیم نیز اختلاف معنی داری ثبت نشد. تفاوت پیش تیمار با آب با بذور پیش تیمار نشده در این سطح از خشکی معنی دار بود (جدول ۳). تحقیقات نشان داده کاربرد نیتروپرووساید سدیم به صورت پیش تیمار، رونویسی و بیان ژن‌های کدکننده کاتالاز را القا می‌کند (Qiao et al., 2014). سنتز کاتالاز با ترمیم ساختارهای سلولی و آزاد شدن اکسیژن در نتیجه تجزیه پراکسید هیدروژن همراه است که این مساله سبب بهبود فعالیت میتوکندری‌ها و به تبع آن بهبود سرعت تنفس و افزایش سنتز ATP خواهد شد (Sirova et al., 2011). برخی محققین بیان داشته‌اند اکسید نیتروژن با حذف گونه‌های فعال اکسیژن، موجب

کمترین آن به بذور پیش تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم تعلق داشت، هرچند که اختلاف آن با غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم و پیش تیمار با آب معنی دار نبود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش محتوای این ترکیب افزایش یافت. کمترین مقادیر مالون دی‌آلدئید به بذور پیش تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم تعلق داشت که با سایر تیمارها تفاوت معنی دار داشت. به طوری که محتوای مالون دی‌آلدئید را در سطوح ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال خشکی به ترتیب ۱۳/۰۱، ۱۴/۴۴ و ۱۴/۳۸ درصد نسبت به عدم پیش تیمار کاهش داد (جدول ۳). بین مقادیر بدست آمده از غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپرووساید سدیم و پیش تیمار با آب در تمام سطوح خشکی به لحاظ آماری تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۳). زوال بذر و تنش خشکی به‌طور طبیعی منجر به تولید مقادیر زیادی مالون دی‌آلدئید می‌شوند که خود بیانگر آسیب به ساختارهایی نظیر غشاء سلولی است. عباسی و همکاران (Abbasi et al., 2014) در پژوهشی نشان دادند که با افزایش شدت تنش خشکی محتوای مالون دی‌آلدئید در ماشک (*Vicia sativa*) افزایش یافت که این مساله خاصیت نفوذپذیری غشاء را تحت الشعاع خود قرار داد. گزارش شده است که نقش اکسید نیتروژن در جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها مربوط به توانایی اکسید نیتروژن برای واکنش با رادیکال‌های آلوکوسی لیپید و پراکسیل لیپید است که به توقف زنجیر پراکسیداسیون منجر می‌شود (He et al., 2014). سیرووا و همکاران (Sirova et al., 2011) اظهار داشتند کاربرد نیتروپرووساید سدیم با افزایش در سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش در محتوای مالون دی‌آلدئید می‌گردد. دانگ و همکاران (Dong et al., 2014) گزارش کردند پرایمینگ بذر سبب کاهش در محتوای مالون دی‌آلدئید بذور زوال یافته پیازچه (*Allium fistulosum*) گردید.

اندامک‌های تولیدکننده این آنزیم میتوکندری‌ها هستند (Xia *et al.*, 2015). اثر حفاظتی اکسید نیتروژن در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم تحت تنش اکسیداتیو می‌تواند ناشی از ترمیم میتوکندری و توانایی اکسید نیتروژن در القای فعالیت سوپراکسید دیسموتاز باشد. در این راستا مانایی و همکاران (Manai *et al.*, 2014). اذعان نمودند کاربرد خارجی نیتروپروساید سدیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز سبب کاهش اثرات منفی ناشی از تنش اکسیداتیو در گیاه گوجه فرنگی شد. لی و همکاران (Li *et al.*, 2013). نیز دریافتند پیش‌تیمار بذور گندم توسط غلظت ۱۰۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تحت تنش اکسیداتیو، توانست فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش دهد و تنش اکسیداتیو بوجود آمده از سرما را به حداقل برساند. دانگ و همکاران (Dong *et al.*, 2014) نیز بهبود در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در نتیجه پرایمینگ در بذور زوال یافته پیازچه گزارش کردند.

### آسکوربات پراکسیداز

اثر اصلی تنش خشکی و پیش‌تیمار به‌همراه اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۱). در خشکی صفر، بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب در غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم، پیش‌تیمار با آب و غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم حاصل گردید که توانستند فعالیت آسکوربات پراکسیداز را به‌ترتیب ۵۰/۵۲، ۴۴/۹۴، ۳۲/۷۵ و ۲۹/۶۱ درصد نسبت به عدم پرایم افزایش دهند (جدول ۳). هر چند که بین غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش‌تیمار با آب از یک‌سو و بین غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم از سوی دیگر تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۳). در پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال، غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم بالاترین فعالیت را نشان

بهبود ظرفیت تحمل به تنش در گیاهان می‌گردد (Tian *et al.*, 2007; Sirova *et al.*, 2011; Qiao *et al.*, 2014). شئوکاند و همکاران (Sheokand *et al.*, 2010) دریافتند کاربرد مقادیر خارجی اکسید نیتروژن در نخود (*Cicer arietinum*)، آسیب‌های بوجود آمده از تنش اکسیداتیو را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش داد.

### سوپراکسید دیسموتاز

براساس نتایج آزمایش، اثرات اصلی و برهم‌کنش پیش‌تیمار و خشکی در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم ثبت شد که با سایر تیمارها و شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۳)، به‌طوری که توانست فعالیت این آنزیم را ۵۴/۳۷ درصد نسبت به بذور پرایم نشده افزایش دهد (جدول ۳). پس از آن، غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم، پیش‌تیمار با آب و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم به‌ترتیب میزان فعالیت را ۴۰/۱۸، ۴۲/۹۰ و ۳۸/۱۶ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. بررسی سطوح مختلف خشکی نشان داد که تشدید تنش خشکی منجر به کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده گردید (جدول ۳). در شرایط تنش نیز غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم فعالیت بالاتری را در مقایسه با سایر تیمارها و بذور پرایم نشده در تمامی سطوح خشکی از خود نشان داد (جدول ۳)، به‌گونه‌ای که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را در سطوح ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- به‌ترتیب ۱۹/۸۶، ۲۳/۵۲ و ۱۸/۷۲ درصد نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده افزایش داد (جدول ۳). در جریان فرآیند زوال، میتوکندری‌ها نیز مانند سایر اندامک‌های سلولی دچار آسیب می‌شوند، بنابراین کاهش در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بسیار محتمل است، زیرا یکی از

## نتیجه گیری

در آزمایش حاضر اثرات منفی زوال بذر و تنش خشکی با استفاده از پیش تیمار نیتروپروساید سدیم با بهبود در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر گردید. به طوری که کاربرد ۷۵ میکرومولار از این ترکیب بیشترین اثر مثبت را نسبت به سایر غلظت‌ها در خصوص بهبود پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی داشت. لذا پیش تیمار نیتروپروساید سدیم با غلظت مذکور جهت کاهش اثرات منفی ناشی از زوال بذر به خصوص در شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش خشکی برای بذرهای این گیاه قابل توصیه است.

داد و با سایر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت، به طوری که میزان فعالیت را ۳۴/۸۰ درصد نسبت به عدم پرایم افزایش داد (جدول ۳). پس از تیمار مذکور، غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش تیمار با آب قرار داشتند که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با بذور پیش تیمار نشده نداشتند. در سطوح ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال خشکی نیز روندی مشابه پتانسیل ۰/۲- مگاپاسکال مشاهده شد (جدول ۳). شئوکاند و همکاران (Sheokand *et al.*, 2010) با بررسی اثر پیش تیمار نیتروپروساید سدیم بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در بذور نخود اظهار داشتند افزایش در القای mRNAs کدکننده این آنزیم منجر به افزایش فعالیت آن شده است. ژنگ و همکاران (Zheng *et al.*, 2009) گزارش کردند اکسید نیتروژن با اثر بر دنباله‌های تیول آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز قادر است رونویسی و فعالیت این آنزیم‌ها را تحت تنش‌های خشکی و شوری افزایش دهد.

## Reference

## منابع

- Abbasi, A.R., R. Sarvastani, B. Mohammadi, and A. Bagheri. 2014. Drought stress induced change at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa L.*) genotypes. *J. Agric. Sci. Technol.* 505-516.
- Arc, E., J. Sechet, F. Corbineau, L. Rajjou, and A. Marionpoll. 2013. ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Front. Plant Sci.* 4: 1-19.
- Asadi-Sanam, S., M. Zavareh, and A. Hashempour. 2015. Protective effect of exogenous nitric oxide on alleviation of oxidative damage induced by high salinity in rice (*Oryza sativa L.*) seedlings. *Iran Agric. Res.* 34(1): 63-70.
- Besson-Bard, A., C. Courtois, A. Gauthier, J. Dahan, G. Dobrowolska, S. Jeandroz, and D. Wendehenne. 2008. Nitric oxide in plants: production and cross-talk with Ca<sup>2+</sup> signaling. *Molecular Plant.* 1(2): 218-228.
- Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. *Analyt Biochem.* 72: 248-254.
- Cakmak, I., and W. Horst. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiol.* 83: 463-468.
- Cavalcanti, F.R., J.T.A. Oliveira, A.S. Martins-Miranda, R.A. Viégas, and J.A.G. Silveira. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpeas leaves. *New Phytol.* 163: 563-571.
- Delouche, J.C., and C.C. Baskin. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. *Seed Sci. Technol.* 1: 427-452.

- Dong, L., Z. Hao, Z. Li, and Q. Wang. 2014.** Enhancement of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) seed vigor by KNO<sub>3</sub> priming. *J. Agric. Sci. Technol.* 16: 1345–1353.
- Ellis, R.A., and E.H. Roberts. 1981.** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.* 9: 373–409.
- Fu, Y.B., Z. Ahmed, and A. Diederichsen. 2015.** Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. *Conserv. Physiol.* 3: 1–16.
- García-Mata, C., and L. Lamattina. 2001.** Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiol.* 126(3): 1196-1204.
- Giannopolitis, C., and S. Ries. 1977.** Superoxid desmutase. I: Occurrence in higher plant. *Plant Physiol.* 59: 309–314.
- Hampton, J.G., and D.M. TeKrony. 1995.** Handbook of Vigour Test Methods. The international Seed Testing Association, Zurich.
- Hamzei, J., and M. Babaei, 2015.** Effect of irrigation and nitrogen fertilizing on phenology, grain yield and oil of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in Hamadan region. *J. Agric. Sci. Sustain. Prod.* 25(2.1): 1-13.
- Hayat, S., S. Yadav, M.N. Alyemeni, and A. Ahmad. 2014.** Effect of sodium nitroprusside on the germination and antioxidant activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Bulg. J. Agric. Sci.* 20 (1): 140–144.
- He, J., Y. Ren, X. Chen, and H. Chen. 2014.** Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* 108: 114-119.
- Hou, L., W. Liu, Z. Li, C. Huang, X.L. Fang, Q. Wang, and X. Liu. 2014.** Identification and Expression Analysis of Genes Responsive to Drought Stress in Peanut. *Russ. J. Plant Physiol.* 61(6): 842–852.
- Irigoyen, J.J., D.W. Emerich, and M. Sanchez-Diaz. 1992.** Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiol. Plant.* 84: 55-60.
- ISTA. 2007.** International Rules for Seed Testing. *Seed Sci. Technol.* 13: 299–520.
- Jisha, K.C., K. Vijayakumari, and J.T. Puthur. 2013.** Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiol. Plant.* 35: 1381–1396.
- Jyoti, and C.P. Malik. 2013.** Seed deterioration: a review. *Int. J. Life Sci. Biotechnol. Pharma Res.* 2(3): 374–385.
- Job, C., L. Rajjou Lovigny, M. Belghazi and D. Job. 2005.** Patterns of protein oxidation in Arabidopsis seeds and during germination. *Plant Physiol.* 138: 790–802.
- Kapoor, R., A. Arya, M.A. Siddiqui, A. Amir, and H. Kumar. 2010.** Seed Deterioration in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Accelerated Ageing. *Asian J. Plant Sci.* 9(3): 158-162.
- Kibinza, S., J. Bazin, C. Bailly, J.M. Farrant, F. Corbineau, and H. El-Marrouf Bouteau. 2011.** Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Sci.* 181: 309-315.
- Li, X., H. Jiang, F. Liu, J. Cai, T. Dai, W. Cao, and D. Jinag. 2013.** Induction of chilling tolerance in wheat during germination by pre-soaking seed with nitric oxide and gibberellin. *Plant Growth Regul.* 71: 31–40.
- Liu, X., L. Wang, L. Liu, Y. Guo, and H. Ren. 2013.** Alleviating effect of exogenous nitric oxide in cucumber seedling against chilling stress. *Afr. J. Biotechnol.* 10(21): 4380-4386.
- Liu, H.Y., X. Yu, D. Cui, M. Sun, W. Sun, Z. Tang, S. Kwak, and W. Su. 2007.** *The role of water channel proteins and nitric oxide signaling in rice seed germination.* *Cell Res.* 17: 638-649.
- Manai, J., H. Gouia, and F. J. Corpas. 2014.** Redox and nitric oxide homeostasis are affected in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) roots under salinity-induced oxidative stress. *J. Plant Physiol.* 171(12): 1028-1035.
- Michel, B.E., and M.R. Kaufmann. 1973.** The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916.
- Miransari, M., and D.L. Smith. 2014.** Plant hormones and seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 99: 110– 121.

- Nakano, Y., and K. Asada. 1981.** Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiol.* 22: 867–880.
- Piterkova, J., L. Luhova, J. Hofman, V. Turec, O. Nova, M. Petrivalsky, and M. Fellner. 2012.** Nitric oxide is involved in light-specific responses of tomato during germination under normal and osmotic stress conditions. *Ann. Bot.* 110: 767–776.
- Qiao, W., C. Li, and L. M. Fan. 2014.** Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. *Environ. Exp. Bot.* 100: 84-93.
- Rahnama-Ghahfarokhi, A., and R. Tavakkol-Afshari. 2007.** Methods for dormancy breaking and germination of galbanum seeds (*Ferula gummosa*). *Asian J. Plant Sci.* 6: 611-616.
- Rehman, H., H. Iqbal, S.M.A. Basra, I. Afzal, M. Farooq, A. Wakeel, and W. Ning. 2015.** Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. *J. Integ. Agric.* 14(9): 1745–1754.
- Sarath, G., G. Hou, L.M. Baird, and R.B. Mitchell. 2007.** Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on germination of warm-season C4-grasses. *Planta.* 226: 697–708.
- Sedghi, M., A. Gholipour, and R. Seyyed Sharifi. 2008.**  $\gamma$ -tocopherol accumulation and floral differentiation of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) in response to plant growth regulators. *Not. Bot. Hort. Agrobot.* 36 (1): 80-84.
- Sheokand, S., V. Bhankar, and V. Sawhney. 2010.** Ameliorative effect of exogenous nitric oxide on oxidative metabolism in NaCl treated chickpea plants. *Brazilian J. Plant Physiol.* 22(2):81-90.
- Sirova, J., M. Sedlaova, J. Piterkova, L. Luhova, and M. Petrivalsky. 2011.** The role of nitric oxide in the germination of plant seeds and pollen. *Plant Sci.* 181:560–572.
- Tabatabaei, S.A. 2013.** The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. *J. Physiol. Biochem.* 9 (4): 132-138.
- Tanou, G., C. Job, L. Rajjou, E. Arc, M. Belghazi, G. Diamantidis, A. Molassiotis, and D. Job. 2009.** Proteomics reveals the overlapping roles of hydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimation of citrus plants to salinity. *Plant J.* 60:795–804.
- Tian, Q. Y., D. H. Sun, M. G. Zhao, and W. H. Zhang. 2007.** Inhibition of nitric oxide synthase (NOS) underline aluminium-induced inhibition of root elongation in *Hibiscus moscheutos*. *New Phytol.* 174: 322-331
- Variar, A., A.K., Vari, and M. Dadlani. 2010.** The subcellular basis of seed priming. *Current Sci.* 99(4): 450-456.
- Wu, X., W. Zhu, H. Zhang, H. Ding, and H.J. Zhang. 2011.** Exogenous nitric oxide protects against salt induced oxidative stress in the leaves from two genotypes of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Acta Physiol. Planta.* 33: 1199–1209.
- Xia, F., X.Wang, M. Li, and P. Mao. 2015.** Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. *Plant Physiol. Biochem.* 94: 122-129.
- Yan, M. 2015.** Hydropriming promotes germination of aged napa cabbage seeds. *Seed Sci. Technol.* 43(2): 303-307.
- Yin, X., D. He, R. Gupta, and P. Yang. 2015.** Physiological and proteomic analyses on artificially aged *Brassica napus* seeds. *Front. Plant Sci.* 6: 1-11.
- Zanardo, D. I., F. M. Zanardo, M. de Lourdes Ferrarese, J. R. Magalhaes, and O. Ferrarese-Filho. 2005.** Nitric oxide affecting seed germination and peroxidase activity in canola (*Brassica napus* L.). *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 11(1): 81.
- Zhang, L., Y. Zhao, Y. Zhai, M. Gao, X. Zhang, K. Wang, W. Nan, and J. Liu. 2012.** Effects of exogenous nitric oxide on glycinebetaine metabolism in maize (*Zea mays* L.) seedlings under drought stress. *Pak. J. Bot.* 44(6): 1837-1844.
- Zheng, C., D. Jiang, F. Liu, T. Dai, W. Liu, Q. Jing, and W. Cao. 2009.** Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environ. Exp. Bot.* 67(1): 222-227.

