"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هشتم، شماره ۱، بهار و تابستان ۹۸
(ص ۸۱-۶۷)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 8, No.: 1, Spring and Summer 2019
(pp: 67-81)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.114505.1108

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

حسین رضا روحی[1*]، علی مرادی[2]، مریم ثمن[3]، علیرضا شاهبداغلو[4]، یاسین محمدی[5]

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

به‌منظور 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 به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان انجام شد. پیش‌تیمار غلظت‌های مختلف نیتروپروساید سدیم شامل صفر (پیش‌تیمار 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، بنیه بذر، طول گیاهچه، هیدرات‌های کربن محلول، پروتئین‌های محلول، هدایت الکترولیتی غشاء، مالون دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بررسی شد. نتایج نشان داد پیش‌تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف نیترو پروساید سدیم، از کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی تحت تنش خشکی جلوگیری نمود. به‌طوری‌که در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، پیش‌تیمار بذرها با ۷۵ میکرومولار نیترو پروساید سدیم سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی، شاخص بنیه بذر، قندها و پروتئین‌های محلول به‌ترتیب به‌میزان ۲۵، ۲۱۴/۱، ۹۰/۸، ۱۱۷/۱ درصد و برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب حدود ۳۴، ۱۴/۵و ۴۱/۴ درصد نسبت به شاهد گردید. بنابراین پیش‌تیمار نیتروپروساید سدیم به‌ویژه با غلظت ۷۵ میکرومولار به دلیل کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از زوال و خشکی برای کدوی پوست کاغذی قابل توصیه است.

کلمات کلیدی: پیش‌تیمار، 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[1*], A. Moradi[2], M. Saman[3], A. Shahbodaghlo[4], Y. Mohammadi[5]

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 µM 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, memberane 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 µM 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 specialy with 75 µM 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 می‌باشد (Hamzei and Babaei, 2015). مواد موثره مورد نیاز در داروسازی نوین که در بذرهای 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 بذرهای روغنی را کاهش داده و منجر به تسریع در فرآیند نامطلوب زوال و کاهش کیفیت فیزیولوژیکی بذر در طول دوره انبارداری می‌گردد (Jyoti and Malik, 2013). با این تفصیل زوال بذر را می توان در زمرهٔ عوامل مهم خسارتزا در چرخهٔ تولید محصولات زراعی به حساب آورد. دربرخی گزارش‌ها میزان این خسارت در چرخهٔ تولید گیاهان زراعی تا ۲۵ درصد برآوردشده است که در گیاهان روغنی شدت این خسارت افزایش می‌یابد (Tabatabae, 2013; Hou *et al.*, 2014).

از سوی دیگر خشکی به عنوان یکی از عوامل مهم محدودکننده تولید گیاهان زراعی فشار مضاعفی را درخصوص جوانه زنی، سبزشدن و بنیه بذرهای زوال یافته ایجاد می‌کند (Jisha *et al.*, 2013). به‌طوری که در بذرهای زوال یافته، جوانه زنی، ظاهرشدن و رشد گیاهچه با مشکل جدی مواجه می‌شود (Kapoor *et al.*, 2010).

نیتروپروساید سدیم (SNP) ترکیب آزاد کننده اکسید نیتروژن (NO) بوده و نقش‌های متعددی در رشد و توسعه گیاهان بازی می‌کند (Tanou *et al.*, 2009). اکسید نیتروژن، 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 می‌کند (Liu *et al.*, 2013). گزارش شده که اکسید نیتروژن می‌تواند 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 لیپوفیلی می‌تواند به راحتی در غشاء حرکت کرده و به‌عنوان 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 نیتروژن را در تخفیف اثرات منفی تنش‌های محیطی اعم از زنده و غیرزنده به‌طور کامل و با جزییات بیشتر مورد ارزیابی قرار دهند. به عنوان مثال مانایی و همکاران (Manai *et al.*, 2014) اذعان نمودند کاربرد خارجی نیتروپروساید سدیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون 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 نیتروپروساید سدیم روی ذرت توانستند شدت تنش خشکی را کاهش دهند. تحقیقات همچنین نشان داده که اکسید نیتروژن درجریان فرآیند جوانه زنی دارای اثرات هم‌افزایی مثبت با هورمون‌هایی نظیر جیبرلین و اتیلن بود درحالی‌که روی اسید آبسیزیک اثر بازدارنده داشت که رابطه‌ای هم افزایی منفی است، بنابراین می‌توان گفت که اکسیدنیتروژن 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 توام عوامل مذکور روی این گیاه گزارش نشده است، هدف از پژوهش حاضر، یافتن

راهکاری جهت ارتقاء جوانه‌زنی و کیفیت فیزیولوژیک بذرهای زوال کدوی پوست کاغذی و کاهش اثر سوء ناشی از تنش خشکی با استفاده از پیش‌تیمار نیتروپروساید 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 تسریع‌شده براساس آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به روش بین کاغذ (Between paper) به‌مدت ۸ روز در دمای ۲۵درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت (ISTA, 2007) و مشخص شد که قوه نامیه بذرها ۹۸ درصد بود. برای انجام پیری تسریع شده، ۱۰۰ عدد بذر روی توری‌های فلزی در ظروف مخصوص و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰درصد به‌مدت ۴۸ ساعت نگه‌داری شدند (Delouche and Baskin, 1973). سپس بذرهای پیرشده در محلولی با غلظت‌های صفر (پیش تیمار شده با آب)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرومولار از نیتروپروساید سدیم به‌مدت ۱۰ ساعت قرار گرفتند. به‌دنبال آن بذرها پس از شستشو باآب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. سپس نیمی از بذرها جهت آزمون هدایت الکتریکی و نیمی دیگر برای آزمون جوانه‌زنی استاندارد استفاده شدند. به‌منظور اِعمال تنش خشکی از محلول پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال (MPa) استفاده شد (Michel and Kaufmann, 1973). خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر به‌عنوان معیار جوانه‌زنی بذرها در نظر گرفته شد(ISTA, 2007). در پایان آزمایش طول گیاهچه اندازه‌گیری شد و نمونه‌گیری به منظور تعیین پارامترهای فیزیولوژیکی مورد نظر صورت گرفت. درصد جوانه‌زنی نهایی (final germination percentage) از رابطه (۱) محاسبه شد (Yan, 2015):

$$FGP = \left(\frac{Ni}{N}\right) \times 100 \qquad \text{(رابطه۱)}$$

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش، N: تعداد کل بذرها

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

$$GR = 1/\sum {}^{\text{fini}}/_{N} \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

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

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

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

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی، SL: طول گیاهچه

اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول بذرها 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 بذرها توسط ترازوی با دقت یک‌صدم گرم (Sartorius BA310S) اندازه‌گیری شد. سپس بذرها به ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل و توسط فویل آلومینیومی پوشانده و در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از ژرمیناتور خارج و محلول به آرامی به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه همزده شد، دمای محلول زمان اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین و از

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

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

اندازه‌گیری قندهای محلول به‌روش ایری‌گوین و همکاران (Irigoyen *et al.*, 1992) انجام شد. پروتئین‌های محلول به روش برادفورد (Bradford, 1976) تعیین و اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید (شاخص آسیب به غشاء) به‌روش کاوال‌کانتی (Cavalcanti *et al.*, 2004) صورت گرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز (با ضریب خاموشی ۳۹/۴ میلی مول بر سانتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان مصرف پراکسیدهیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول پراکسیدهیدروژن تجزیه شده در دقیقه) بر میلی‌گرم 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 درطول موج ۵۶۰ نانومتر به‌صورت واحد آنزیم (یک واحد سوپراکسیددیسموتاز در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (با ضریب خاموشی ۲/۸ میلی مول بر سا نتی‌متر) به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات درطول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و به‌صورت واحد آنزیم (یک میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین گزارش گردید (Nakano and Asada, 1981).

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام و از تبدیل آرک‌سینوس (arcsin) جهت 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 درسطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

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

و سطوح ۲۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تفاوت آماری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال، بیشترین درصد جوانه زنی به بذور پیش‌تیمار شده با بالاترین غلظت نیتروپروساید سدیم تعلق داشت و درصد جوانه زنی 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 فیزیویوژیک و قوه نامیه از علائم زوال بذر محسوب می‌شود. از آنجا که اکسید نیتروژن نقش واسط در مسیرهای سیگنالی تنش را در سلول به‌عهده دارد، افزایش درصد جوانه‌زنی بذور پیرشده در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم، می‌تواند به‌دلیل افزایش 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 آبسیزیک اسید و تحریک مسیر سیگنالی هورمون اتیلن ذکر کرده‌اند که سبب افزایش تولید پیش‌ساز هورمون اتیلن شده و به تبع آن جوانه زنی تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد. همچنین حیات و همکاران (Hayat *et al*., 2014) اظهار داشتند پیش‌تیمار نیتروپروساید سدیم در بذرهای گوجه فرنگی (*Lycopersicun esculentm*) قادر است درصد جوانه‌زنی را به علت فعال سازی آنزیم بتا دی‌گلوکاناز و تحریک مسیر بیوسنتزی هورمون جیبرلین افزایش دهد.

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

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

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی 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: شاخص‌بنیه‌طولی‌گیاهچه، 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 پیش‌تیمار بذر بر خصوصیات مورفولوژیک بذرهای پیرشده 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 ۲۵ میکرومولار SNP 25 µM	0	61.33 b	0.246 b	8.35 c	5.12 c
	-0.2	32.66 h	0.107 e-h	3.30 h	1.09 hi
	-0.4	27.10 hij	0.099 f-i	2.90 jk	0.78 jk
	-0.6	22.10 kl	0.094 ghi	2.22 m	0.48 lm
نیتروپروساید سدیم ۵۰ میکرومولار SNP 50 µM	0	70.66 a	0.304 a	8.72 b	6.15 b
	-0.2	38.10 d	0.118 de	3.72 f	1.41 f
	-0.4	34.33 def	0.110 efg	3.35 gh	1.15 gh
	-0.6	28.66 ghi	0.102 e-i	2.83 k	0.81 j
نیتروپروساید سدیم ۷۵ میکرومولار SNP 75 µM	0	74.66 a	0.320 a	9.13 a	6.82 a
	-0.2	44.33 c	0.132 cd	3.97 e	1.75 e
	-0.4	37.66 d	0.116 def	3.43 g	1.29 fg
	-0.6	35.33 de	0.105 e-h	3.03 i	1.07 hi
پیش‌تیمار با آب Hydro-priming	0	71.33 a	0.236 b	8.77 b	6.28 b
	-0.2	33.80 def	0.106 e-h	3.43 g	1.17 cd
	-0.4	30.33 fgh	0.099 f-i	3.02 i	0.91 ij
	-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
	-0.2	28.80 ghi	0.100 e-h	2.97 ij	0.85 j
	-0.4	24.00 jk	0.091 hi	2.40 l	0.78 jk
	-0.6	18.66 l	0.083 i	1.90 n	0.48 lm

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری 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

سرعت جوانه‌زنی

با توجه به معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل تنش در پیش‌تیمار (جدول ۱)، مشخص گردید که در شرایط بدون تنش، بالاترین سرعت جوانه زنی به‌ترتیب در غلظت‌های ۷۵، ۵۰ و۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش‌تیمار با آب حاصل گردید، به طوری‌که سرعت جوانه زنی به‌ترتیب ۱/۳۰، ۱/۱۸، ۰/۷۶ و ۰/۶۹ برابر نسبت به عدم پرایم افزایش یافت (جدول ۲). این در حالی بود که از یک‌سو بین غلظت‌های ۷۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و از سوی دیگر بین غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش‌تیمار با آب تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار سرعت جوانه زنی بذور مورد بررسی شد. در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بین سطوح ۷۵ و ۵۰ میکرومولار نیتروپروساید سدیم از یک‌طرف و بین غلظت‌های ۵۰، ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم،

پیش‌تیمار با آب و بذور پیش‌تیمار نشده از طرف دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال، بین هیچ‌یک از تیمارها از نظر سرعت جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری ثبت نشد، هرچند که اختلاف بین غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم، پیش‌تیمار با آب و شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۲). در خشکی ۰/۶- مگاپاسکال نیز وضعیت کاملا مشابه پتانسیل ۰/۴- مگاپاسکال بود (جدول ۲). مطالعات نشان داده که زوال بذر موجب کاهش معنی‌دار سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر به‌ویژه 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). پیترکوا و همکاران (Piterkova *et al*., 2012) گزارش کردند که پیش‌تیمار اکسید نیتروژن سبب بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) در مقایسه با بذرهای پرایم نشده تحت تنش خشکی شد. آن‌ها همچنین اظهار داشتند که کاربرد بازدارنده اکسیدنیتروژن سرعت جوانه‌زنی را به‌شدت کاهش داد. رحمان و همکاران (Rehman *et al*., 2015). کاهش درصد و سرعت جوانه زنی بذرهای پیرشده ذرت را ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز دانستند. سیرووا و همکاران (Sirova *et al*., 2011) بهبود سرعت جوانه‌زنی بذور در نتیجه پیش‌تیمار با اکسید نیتروژن را ناشی از القای سنتز پروتئین‌های مرتبط با مسیر سیگنالی هورمون‌های رشد نظیر جیبرلین و اتیلن ذکر کردند. به‌نظر 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، پیش‌تیمار بذور گوجه فرنگی با نیتروپروساید سدیم سبب افزایش درصد جوانه‌زنی این گیاه شد. در کلزا زاناردو و همکاران (Zanardo *et al*., 2005) بیان داشتند پیش‌تیمار بذور با غلظت‌های پایین ۰/۰۵ و ۰/۵ میلی‌مولار نیترو پروساید سدیم باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد.

طول گیاهچه

بررسی داده‌های طول گیاهچه نشان داد اثر متقابل پیش‌تیمار و خشکی به‌همراه اثرات اصلی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). مشخص گردید که در شرایط بدون تنش، پیش‌تیمار 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 (جدول۲). تحت شرایط خشکی، اگرچه پیش‌تیمار 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 معنی‌داری 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، به‌نظر 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 بذرهای برنج توسط مسیر سیگنالی اکسید نیتروژن می‌باشد (Liu *et al*., 2007). تیمار بذور برنج با نیتروپروساید سدیم سبب افزایش در بیان ژن‌های کد کننده

آکواپورین‌ها شد که این مساله بهبود جذب آب درجریان 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 بنیه گیاهچه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثرات اصلی پرایمینگ و تنش و برهم‌کنش آن‌ها را در سطح یک درصد برای شاخص بنیه نشان داد (جدول ۱). شاخص بنیه 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 پیش‌تیمار نشده تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، بیشترین شاخص بنیه 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 بنیه در پیش‌تیمار 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 پیش‌تیمار نیتروپروساید سدیم به‌میزان ۱۰۰ میکرومولار روی بذور گندم سبب بهبود شاخص جوانه‌زنی بذرگردید. سایر محققین بیان داشتند که کاربرد خارجی نیتروپروساید سدیم به‌دلیل اثر سینرژیستی روی پراکسید هیدروژن، سرعت انتقال پروتئین‌های ذخیره‌ای به جنین در حال رشد را افزایش داده و از این طریق بنیه بذر و استقرار گیاهچه افزایش می‌یابد (Qiao *et al*., 2014) پژوهشگران علت آن را تغییرات ویژه در الگوی کربونیلاسیون 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 پیش‌تیمار نشده اختلاف معنی‌داری داشت (جدول۳). با افزایش شدت تنش نشت الکترولیتی در بذور پیش‌تیمار شده و پیش‌تیمار نشده افزایش یافت اما پیش‌تیمار 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 (جدول۳)، به‌طوری که بیشترین مقدار نشت الکترولیتی متعلق به بذور پرایم نشده در پتانسیل ۰/۶- مگاپاسکال بود (جدول۳). 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 پیش‌تیمار قادر است صدمات وارده به غشاء سلول را که درنتیجه زوال و خشکی ایجاد شده کاهش دهد و پیامد آن کاهش در نشت الکترولیتی بذر می‌باشد. این مساله می‌تواند ناشی از ارتقاء سیستم آنتی اکسیدانی گیاه باشد.گارسیاماتا و لاماتینا (Garcia-Mata and Lamattina, 2001) نشان دادند کاربرد اکسید نیتروژن در گیاه گندم تحت تنش

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 سبب فعال شدن مسیر سیگنالی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پیش تیمار بذر بر خصوصیات فیزیولوژیک بذرهای پیرشده 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 ($\mu S.cm^{-1}g^{-1}$)	قندهای محلول Carbohydrates ($mg.[gdw]^{-1}$)	پروتئین های محلول Soluble proteins ($mg.[gfw]^{-1}$)	محتوای مالون دی‌آلدهید Malondialdehyde content ($nmol.[gfw]^{-1}$)	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 µM	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 µM	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 µM	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
پیش‌تیمار 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 معنی‌دار شدن اثرات اصلی و اثر متقابل دوگانه (جدول ۱)، نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش بیشترین مقدار قندهای محلول در بذرهای پیش‌تیمار شده و کمترین مقدار در بذور پیش تیمار نشده بدست آمد (جدول ۳). در این میان نیتروپروساید سدیم با غلظت ۷۵ میکرومولار مقادیر بیشتری را نسبت به سایر تیمارها و بذور پیش تیمار نشده از خود نشان داد. در خشکی صفر، پیش تیمار با آب و پیش‌تیمار نیتروپروساید سدیم با غلظت ۵۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری 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 پیش 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 می‌کند 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 آبسیزیک از یک‌سو و با فعال‌سازی سنتز پیش‌ساز سنتز هورمون اتیلن از سوی دیگر سبب تسریع در فرآیند جوانه‌زنی می‌گردد (Qiao *et al*., 2014). با توجه به این که اثر هورمون اتیلن در فرآیند جوانه‌زنی با هورمون‌های جیبرلین، اکسین و سیتوکینین سینرژیستی می‌باشد، اکسید نیتروژن با القای سنتز جیبرلین و به تبع آن فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، قادر است محتوای قندهای ساده و محلول بذر را به‌صورت غیرمستقیم افزایش دهد (Miransari and Smith, 2014; Qiao *et al*., 2014). همچنین مشخص شده که اکسید نیتروژن با شکستن باندهای دی‌سولفیدی بتا آمیلاز قادر است فعالیت این آنزیم را در گندم افزایش دهد و با این‌کار سرعت تجزیه نشاسته و به تبع آن تولید قندهای ساده و محلول را افزایش دهد (Wu *et al*., 2011).

پروتئین‌های محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات اصلی و اثر متقابل خشکی و پرایمینگ بر پروتئین‌های محلول در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بین مقادیر بدست آمده از پیش‌تیمار با آب و غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما میزان پروتئین‌های محلول در غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروسایدسدیم بیشتر از سایر تیمارها و عدم پیش‌تیمار بود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش مقدار پروتئین‌های محلول کاهش یافت و کمترین میزان را بذور پیش‌تیمار نشده نشان دادند (جدول ۳). در تمامی سطوح خشکی، بیشترین مقادیر پروتئین‌های محلول در پرایمینگ توسط ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و بذور پیش‌تیمار نشده داشت (جدول ۳). کاهش در مقدار پروتئین‌ها در فرآیند زوال ناشی از دناتوره شدن آن‌ها و یا آسیب‌های غیرقابل بازگشت به ساختار پروتئین‌ها به‌دلیل حمله رادیکال‌های آزاد می‌باشد، پیش تیمار بذر از طریق سنتز پروتئین‌های 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 پروتئین‌های محلول در برنج تحت تنش اکسیداتیو شد. آن‌ها علت این امر را افزایش در سنتز پروتئین‌ها و ممانعت از دناتوره شدن آن‌ها در نتیجه کاربرد نیتروپروساید سدیم ذکر کردند.

محتوای مالون دی آلدهید

اثر اصلی تنش خشکی و پیش تیمار و اثرمتقابل آن‌ها بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). در شرایط عدم تنش، بیشترین مقدار مالون دی‌آلدهید به بذور پیش‌تیمار نشده اختصاص داشت و

کمترین آن به بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تعلق داشت، هرچند که اختلاف آن با غلظت ۵۰ میکرومولار نیتروپروسایدسدیم و پیش‌تیمار با آب معنی‌دار نبود (جدول ۳). با افزایش شدت تنش محتوای این ترکیب افزایش یافت.کمترین مقادیر مالون دی‌آلدهید به بذور پیش‌تیمار شده با غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم تعلق داشت که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت. به‌طوری که محتوای مالون دی‌آلدهید را در سطوح ۰/۲-، ۰/۴- و ۰/۶- مگاپاسکال خشکی به‌ترتیب ۱۳/۰۱، ۱۴/۴۴ و ۱۴/۳۸ درصد نسبت به عدم پیش‌تیمار کاهش داد (جدول ۳). بین مقادیر بدست آمده از غلظت ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید 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 دی‌آلدهید 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 دی‌آلدهید 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 آلکوکسی 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 نیتروپروساید سدیم با افزایش در سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش در محتوای مالون دی‌آلدهید می‌گردد. دانگ و همکاران (Dong *et al.*, 2014) گزارش کردند پرایمینگ بذر سبب کاهش در محتوای مالون دی‌آلدهید بذور زوال یافته پیازچه (*Allium fistulosum*) گردید.

کاتالاز

با توجه به معنی‌دار 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 پیش‌تیمار بود (جدول ۳). به‌طوری‌که پیش‌تیمار با آب و غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم فعالیت کاتالاز را به‌ترتیب ۱۹/۵۳، ۲۹/۳۰، ۴۶/۰۴ و ۵۵/۸۱ درصد نسبت به بذور پیش‌تیمار نشده افزایش داد (جدول ۳). در خشکی ۰/۲- مگاپاسکال کمترین فعالیت کاتالاز در بذور پرایم نشده مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با مقادیر حاصل از کاربرد ۲۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم و پیش‌تیمار با آب نداشت (جدول ۳). بیشترین فعالیت کاتالاز در غلظت ۷۵ میکرومولار نیتروپروساید سدیم ثبت شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری 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 نیتروپروساید سدیم حاصل شد اما تفاوت معنی‌داری با غلظت دوم نیتروپروساید سدیم از خود نشان نداد (جدول ۳). این در حالی بود که بین غلظت‌های اول و دوم نیتروپروساید سدیم نیز اختلاف معنی‌داری ثبت نشد. تفاوت پیش‌تیمار با آب با بذور پیش‌تیمار نشده در این سطح از خشکی معنی‌دار بود (جدول ۳). تحقیقات نشان داده کاربرد نیتروپروساید سدیم به‌صورت پیش‌تیمار، 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

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.

سوپراکسیددیسموتاز

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 ۴۲/۹۰، ۴۰/۱۸ 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- و۰/۶- 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 اندامک‌های تولیدکننده این آنزیم میتوکندری‌ها هستند (Xia *et al.*, 2015). اثر حفاظتی اکسید نیتروژن درنتیجه 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 گلوتاتیون 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 اثرمتقابل 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 ۵۰و 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 غلظت‌های۲۵ 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

داد و با سایر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت، به‌طوری 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 پیش‌تیمار با آب قرار داشتند که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و همچنین با بذور پیش‌تیمار 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 پیش‌تیمار 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.

نتیجه‌گیری

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. به‌طوری که کاربرد ۷۵ میکرومولار از این ترکیب بیشترین اثر مثبت را نسبت به سایر غلظت ها 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.

منابع

Reference

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^{2+} 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 KNO3 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: Occurence 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, Zurikh.

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 ascrobate-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.γ-tocopherol accumulation and floral differentiation of medicinal pumpkin (*Cucurbıta pepo* L.) in response to plant growth regulators. Not. Bot. Hortic. 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 alaminium-induced inhibition of root elongation in *Hibiscus moscheutos*. New Physiol. 174: 322-331

Varier, 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. Environm. Exp. Bot. 67(1): 222-227.