**Research Article****Investigating the effect of pretreatment on germination and seedling growth of two rape cultivars (*Brassica napus* L.) under salt stress conditions**Saeed Saeedipour^{1*}

1. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shoushtar branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Article InformationReceived: 03 Jul. 2023
Revised: 19 Sept. 2023
Accepted: 27 Sept. 2023**Keywords:**Antioxidant activity,
Hayola 401,
Osmo-priming,
Potassium nitrate,
Salinity

Corresponding Author:

saeedsaeedipour@iau.ac.ir**Abstract**

This experiment was conducted in order to evaluate the effects of osmo-priming on the characteristics of germination, seedling and some physiological characteristics of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.) under saline conditions. The seeds of two spring rape varieties (Hayola 401 and Ocapi) were pretreated with 29.5 mM potassium nitrate (KNO₃) for 12 hours at 30 degrees Celsius. In the first experiment after priming, 25 primed and unprimed seeds were placed in petri dishes with 4 levels of salinity (0, 50, 100 and 150 mM of NaCl) factorially in a completely randomized design. Four replicates were included. The results showed that the germination percentage of primed seeds was more than non-primed seeds. It seems that tolerance to salinity in primed seeds is due to the higher ability of these seedlings in osmotic regulation. In pot culture, the pots were kept for three weeks in the greenhouse with a temperature of 26/16 degrees Celsius (day/night). The pots were watered every day with saline solutions (0, 50, 100 and 150 mM of NaCl). This experiment was also carried out based on a completely random design with 4 replications. The results showed that salt stress reduced the dry weight of seedlings of both cultivars, but the dry weight of seedlings obtained from primed seeds was more than that of non-primed seeds. The multi-way interaction results also showed that the primed seeds had higher antioxidant enzyme activity and higher content of soluble sugars and proline, at the same time, cell membrane damage was lower in them due to the lower concentration of malondialdehyde compared to non-primed seeds. Under the salinity stress of 150 mM, the highest dry weight, antioxidant activity, accumulation of soluble sugars and lower concentration of malondialdehyde were observed in Hyola 401 variety. This research showed that priming with KNO₃ improves canola seed germination under stress conditions.

How to cite this paper: Saeedipour, S. (2024). Investigating the effect of pretreatment on germination and seedling growth of two rape cultivars (*Brassica napus* L.) under salt stress conditions, Iranian Journal of Seed Science and Technology, 13 (3), 21-38. <https://doi.org/10.22092/ijst.2023.362784.1493>



© Authors, Published by Iranian Journal of Seed Science and Technology. This is an open-access article distributed under the CC BY (license <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Seed priming is a method by which seeds are physiologically and biochemically prepared for germination before being placed in their substrate and facing the ecological conditions of the environment. This can improve many biological and physiological manifestations in the primed seed and the resulting plant, especially in unfavorable environmental conditions, so that these things can be seen in the speed, percentage and uniformity of germination or seedling emergence. Globally, soil salinity is one of the most important ecological issues of rainfed agriculture and has become a major obstacle to crop yield. Rapeseed seeds are usually planted in unsuitable soil in terms of humidity (due to lack of rainfall at the time of planting), and drought and salt stress, which are factors that reduce water availability, inhibit and delay germination. This stress has an adverse effect on the growth and development of rapeseed and leads to a decrease in yield and economic efficiency. The purpose of this research is to investigate the effects of osmo-priming on the dynamics of germination and seedling growth of two canola cultivars (Hayola 401 and Okapi) under salt stress and to evaluate the physiological effects of priming on the activity of antioxidant enzymes.

Materials and Methods

This research was carried out in the laboratory of the Seed Science and Technology Department of Islamic Azad University, Shushtar branch, with the aim of investigating the effect of potassium nitrate pretreatment on the germination characteristics and some antioxidant enzymes of two rapeseed varieties in 2020-2021. The seeds of two canola cultivars (Hayola 401 and Okapi) were obtained from the International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Safiabad Dezful Research Station. In the first experiment after priming, 25 primed and unprimed seeds were placed in petri dishes with 4 levels of salinity (0, 50, 100 and 150 mM of NaCl) factorially

in a completely randomized design. In pot culture, the pots were kept for three weeks in the greenhouse with a temperature of 26/16 degrees Celsius (day/night). The pots were watered every day with saline solutions (0, 50, 100 and 150 mM of NaCl). This experiment was also carried out based on a completely random design with 4 replications.

Results and Discussion

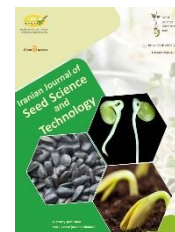
The results showed that the germination percentage of primed seeds was more than non-primed seeds. It seems that tolerance to salinity in primed seeds is due to the higher ability of these seedlings in osmotic regulation. In pot culture, the results showed that salt stress reduced the dry weight of seedlings of both cultivars, but the dry weight of seedlings obtained from primed seeds was more than that of non-primed seeds. The multi-way interaction results also showed that the primed seeds had higher antioxidant enzyme activity and higher content of soluble sugars and proline, at the same time, cell membrane damage was lower in them due to the lower concentration of malondialdehyde compared to non-primed seeds. Under the salinity stress of 150 mM, the highest dry weight, antioxidant activity, accumulation of soluble sugars and lower concentration of malondialdehyde were observed in Hyola 401 variety.

Conclusion

Improvement in seedling growth, development and establishment is correlated with water absorption efficiency of seedlings obtained from primed seeds. In this research, the seeds pretreated with KNO_3 produced higher germination percentage, shorter average germination time and stronger seedlings, while the number of established seedlings per unit area was also higher. Therefore, pretreatment with potassium nitrate may be an efficient method to overcome germination problems and improve seedling growth in the field, especially in saline conditions.



نشریه علوم و فناوری بذر ایران



ISSN: 2588-4638

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر پیش تیمار بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط تنش شوری

سعید سعیدی پور^{۱*}

۱. دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۵

واژه‌های کلیدی:

اسموپرایمینگ،

شوری،

فعالیت آنتی‌کسیدانتی،

نیترات پتاسیم،

هایولا ۴۰۱

نویسنده مسئول:

saeedsaeedipour@iau.ac.ir

چکیده

این آزمایش به منظور ارزیابی اثرات اسمو-پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی، گیاهچه‌ای و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) تحت شرایط تنش شوری انجام گرفت. بذرها دو رقم کلزا بهاره (Ocapı و Hayola 401) با نیترات پتاسیم (KNO_3) ۲۹/۵ میلی‌مولار به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس پیش تیمار شدند. در آزمایش اول بعد از انجام پرایمینگ، ۲۵ عدد بذر پرایم شده و نشده در پردیش‌هایی با ۴ سطح تنش شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار قرار داده شدند. نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذرها پرایم شده بیش از بذرها پرایم نشده بود. به نظر می‌رسد که تحمل به شوری در بذرها پرایم شده در نتیجه توان‌مندی بالاتر این گیاهچه‌ها در تنظیم اسمزی است. در کشت گلدانی، گلدان‌ها برای مدت سه هفته در محیط گل‌خانه با دمای ۱۶/۲۶ درجه سلسیوس (روز/شب) نگه‌داری شدند. گلدان‌ها هر روز با محلول‌های شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام) آبیاری شدند. این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری وزن خشک گیاهچه‌های هر دو رقم را کاهش داد، اما وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذرها پرایم شده بیش از بذرها پرایم نشده بود. نتایج برهم‌کنش چند جانبه نیز نشان داد که بذرها پرایم شده فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانتی بالاتر و محتوای قندهای محلول و پرولین بیش‌تری داشتند. در عین حال خسارت غشاء سلولی در آن‌ها به دلیل غلظت کم‌تر مالون‌دی‌آلدئید نسبت به بذرها پرایم نشده پایین‌تر بود. تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار، بیش‌ترین وزن خشک، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، تجمع قندهای محلول و غلظت کم‌تر مالون‌دی‌آلدئید در رقم هایولا ۴۰۱ مشاهده شد. این تحقیق نشان داد که پرایمینگ با KNO_3 بینه بذرها کلزا را تحت شرایط تنش بهبود می‌بخشد.

نحوه استناد به این مقاله: سعیدی پور، سعید. (۱۴۰۳). بررسی تأثیر پیش تیمار بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ای دو رقم کلزا (*Brassica napus* L.) در شرایط

تنش شوری، نشریه علوم و فناوری بذر ایران، دوره ۱۳، شماره ۳، صفحات ۳۸-۲۱. <https://doi.org/10.22092/ijst.2023.362784.1493>

مقدمه

پرایمینگ بذر راه کاری است که به واسطه آن بذرهای پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورند. این امر می‌تواند به ویژه در شرایط نامطلوب محیطی سبب بهبود تظاهر زیستی و فیزیولوژیکی متعددی در بذر پرایم شده و گیاه حاصل از آن شود به طوری که این موارد را می‌توان در سرعت، درصد و یکنواختی جوانه‌زنی یا خروج گیاهچه، استقرار اولیه گیاه، بهره‌برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی، افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد (Christos et al., 2019). به طور کلی بذرهای پرایم شده در مقایسه با بذرهای پرایم نشده قادرند خصوصیات جوانه‌زنی را توسعه دهند. بالاترین ویژگی‌های جوانه‌زنی از بذرهای هیدرو و هالو پرایم شده در شرایط کنترل شده به دست آمد. علت تسریع جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده مثل آلفا-آمیلاز، افزایش سطح قابلیت انرژی زیستی در قالب افزایش مقدار ATP، افزایش سنتز RNA و DNA، افزایش تعداد و در عین حال ارتقاء عملکرد میتوکندری‌ها باشد (Davood, 2018).

از سوی دیگر، در سطح جهانی، شوری خاک یکی از مهمترین مسائل اکولوژیکی کشاورزی دیم است و به یک مانع بزرگ برای عملکرد محصولات زراعی تبدیل شده است. علاوه بر این، شوری در مزارع آبی نیز به دلیل مدیریت نامناسب آبیاری و کشاورزی گسترش یافته است (Abraha & Yohannes, 2013). شوری باعث ایجاد یک سری تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در گیاهان می‌شود. بنابراین، تکنیک‌های مختلف پرایمینگ باید برای رویارویی با چالش‌های شوری خاک و سایر تنش‌های غیرزیستی مؤثر بر جوانه‌زنی، بنیه بذر و همچنین بهره‌وری محصول توسعه یابد (Ibrahim, 2016). محققین گزارش کردند که پرایمینگ می‌تواند بهره‌برداری از ذخیره بذر نظیر: وزن ذخیره بذر استفاده شده، راندمان استفاده از ذخیره بذر

و رشد گیاهچه تحت تنش شوری را بهبود بخشد (Aghbolaghi & Sedghi, 2014). بذر کلزا معمولاً در بستر نامناسب به لحاظ رطوبت (به دلیل کمبود بارندگی در زمان کاشت) کاشته می‌شود و تنش خشکی و شوری که از عوامل کاهش دسترسی به آب است (Paraver et al, 2015) عامل بازداری و تأخیر در جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در بسیاری از مناطق ایران هستند. این تنش بر رشد و نمو کلزا تأثیر نامطلوب داشته و منجر به کاهش عملکرد و بازده اقتصادی می‌گردد. گزارش‌های متعددی تحت شرایط گوناگون محیطی از قبیل شوری، کمبود رطوبت و دماهای بالا و پایین ارائه شده که نشان می‌دهد اسموپرایمینگ، منجر به ایجاد تغییرات در سطح سلولی و مولکولی در بذر می‌شود و به دنبال آن بنیه بذر طی جوانه‌زنی و خروج ریشه‌چه در گونه‌های مختلف گیاهی بهبود می‌یابد (Davood, 2018). ساهی و همکاران (Sahi et al., 2009) دریافتند که شوری، جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و پایداری غشاء سلولی را کاهش و موجب افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی در خربزه می‌گردد. فاروق و عظیم (Farooq & Azam, 2006) و مونز و جمز (Munns and James, 2003) عنوان کردند که ارزیابی پایداری غشاء سلولی تکنیک مناسبی جهت غربال‌گری گیاهان در شرایط شوری است. باندیگلو و همکاران (Bandeoglu et al., 2004) دریافتند که تنش شوری تولید مالون دی‌آلدئید و خسارت به غشاء سلولی برگ گیاهچه‌های برنج را افزایش می‌دهد. تولید گونه‌های اکسیژن فعال^۱ (ROS) در سلول‌ها، طی تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند شوری افزایش می‌یابد. افزایش گونه‌های اکسیژن فعال می‌تواند به طور جدی موجب از هم گسیختن تعادل و فعالیت طبیعی سلولی از طریق وارد آوردن خسارت‌های اکسیداتیو به چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسید نوکلئیک‌ها شود (Petrov et al., 2015). در مقابل، افزایش تحمل به شوری ناشی از اسموپرایمینگ بذر، به واسطه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی آنزیم‌های کاتالاز^۲، پراکسیداز^۳ و سوپراکسید دیسموتاز^۴ در آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*)، خربزه (*Cucumis melo L.*) و گوجه

¹ Reactive Oxygen Species

² Catalase

³ Peroxidase

⁴ Super oxide dismutase

در محلول نیترات پتاسیم ۲۹/۵ میلی مولار برای مدت ۱۲ ساعت پیش تیمار شده، سپس کشت انجام شد (Ansari et al., 2018). در هر تیمار، ۲۵ عدد بذر درون هر پتری دیش به قطر نه سانتی متر روی کاغذ صافی واتمن شماره یک قرار داده شد و با محلول‌های مختلف شوری تیمار شدند. به منظور کاهش تبخیر آب دور پتری دیش‌ها با پارافیلیم بسته و به ژرمیناتور (مدل +A، کد محصول ۷۲۳۹۶، ساخت شرکت نور صنعت فردوس) با دمای ۲۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. شمارش بذرهای جوانه زده به صورت روزانه و تا ۱۰ روز ادامه داشت (Kaur et al., 2005). بذرهایی که طول ریشه چه آنها به دو میلی متر می رسید، جوانه زده محسوب می شدند (Gholami et al., 2005). درصد، سرعت و متوسط زمان جوانه زنی از روابط ۱ (Ikic et al., 2012) و ۲ (Verma et al., 2005) و ۳ (Elis & Roberts, 1981) محاسبه شد.

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

$$GR = \sum_{i=1}^d ni/ti \quad \text{رابطه ۲}$$

$$MGT = \sum(nt)/\sum n \quad \text{رابطه ۳}$$

در این روابط GP، GR، و MGT به ترتیب درصد، سرعت و متوسط جوانه زنی، N تعداد کل بذرها، n تعداد بذرهای جوانه زده در هر روز و t زمان به روز است. در پایان آزمایش برای محاسبه وزن خشک، گیاهچه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت (Keikha et al., 2016). از آن جا که داده‌های آزمایش‌های جوانه زنی به صورت شمارش یا درصد به دست می آیند در بسیاری از موارد این داده‌ها دارای توزیع دو جمله‌ای بوده و نرمال نمی باشند، لذا نیاز به تبدیل داده‌ها ضرورت دارد. اصولاً برای تبدیل داده‌های جوانه زنی از تبدیل زاویه‌ای (ArcSin x) استفاده می شود (Parker, 1993).

آزمایش دوم

در این مرحله بذرهای ۲۰ عدد بذر پرایم شده و نشده در گلدان‌هایی که با نسبت ۳ به ۱ با پرلیت و پیت پر شده بودند، کشت گردید (Farhoudi et al., 2011). گلدان‌ها (با ابعاد دهانه

فرنگی (Jumsoon et al.,) (*Lycopersicon esculentum* Mill.) گزارش شده است. شعبان (Shaaban, 2016) گزارش داد که پیش تیمار بذر جو با KNO_3 و جیبرلین اثر معنی داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد داشت و بذرهای با فعالیت آنزیمی بیش تر دارای درصد جوانه زنی بیش تری بودند. هم چنین یونسی و همکاران (Uonesi et al., 2013) گزارش کردند که اعمال پیش تیمار در بذر ارزن مرواریدی (*Pennisetum glaucum* L.) باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت به ویژه آنزیم کاتالاز و نیز افزایش درصد و سرعت جوانه زنی نسبت به تیمارهای پیش تیمار نشده شد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات اسموپرایمینگ بر پویایی جوانه زنی و رشد گیاهچه‌ای دو رقم کلزا (Okapi & Hayola 401) تحت تنش شوری و ارزیابی اثرات فیزیولوژیکی پرایمینگ بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی می باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه گروه تکنولوژی و علوم بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، با هدف بررسی تأثیر پیش تیمار نیترات پتاسیم (با کد کالای A7773) بر خصوصیات جوانه زنی و برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی بذرهای دو رقم کلزا در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ انجام شد. بذرهای دو رقم کلزا (Okapi و Hayola 401) از مؤسسه بین المللی کشاورزی گرمسیری (IITA)، ایستگاه تحقیقات صفی آباد دزفول تهیه شد. قبل از شروع آزمایش، بذرهای در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه استریل شدند، سپس با آب مقطر شست شو داده، خشک شدند (Ansari et al., 2018).

آزمایش اول

آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با دو عامل ۱- پرایمینگ در دو سطح (با نیترات پتاسیم و عدم پرایمینگ به عنوان شاهد) ۲- شوری حاصل از کلرید سدیم در چهار سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) با چهار تکرار انجام شد. بذرهای کلزا

¹ The International Institute of Tropical Agriculture

دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده تا الکل آن تبخیر شد. پس از تبخیر الکل مقدار ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و به منظور حذف رسوبات، پنج میلی لیتر سولفات روی پنج درصد و ۴/۷ میلی لیتر هیدروکسید باریوم ۰/۳ نرمال اضافه شد. مقدار ۴۵ میلی لیتر از نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰g سانتریفیوژ شد. دو میلی لیتر از عصاره شناور را برداشت کرده و مقدار یک میلی لیتر محلول ۵ درصد فنل به آن افزوده شد. بعد از تکان دادن شدید محلول، مقدار پنج میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به نمونه اضافه شد. در این مرحله قند محلول به رنگ نارنجی درآمد. پس از ۴۵ دقیقه و با تثبیت رنگ، میزان جذب نور در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد (Hedge & Hofreiter, 1962).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاهچه در هاون چینی سرد با قرار دادن در ظرف یخ با دو میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با $\text{pH} = 6.8$ ، همگن شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰g در دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. فاز بالایی عصاره به دست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. به سه میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با $\text{pH} = 7$ حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر با کد EZ 210 مدل Lambda (ساخت شرکت پرکین المر آمریکا) میزان کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. با افزودن H_2O_2 تجزیه آن شروع شده و موجب کاهش جذب گردید. فعالیت آنزیمی بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه بر دقیقه محاسبه شد. ضریب خاموشی برای کاتالاز ۰/۰۳۹۴ میلی مول بر سانتی متر بود (Aebi, 1984).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، دو میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی مولار با $\text{pH} = 6.1$ ، ۰/۵ میلی لیتر گایاکول ۲۸ میلی مولار و ۰/۵ میلی لیتر H_2O_2 پنج میلی مولار اضافه کرده و در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی

۱۲ و ارتفاع ۱۱ سانتی متر) برای مدت سه هفته در محیط گل‌خانه با دمای ۱۶/۲۶ درجه سلسیوس (روز/شب) نگه‌داری شدند. گل‌دان‌ها هر روز با محلول‌های شوری از پیش تهیه شده آبیاری شدند و مازاد آب به‌طور طبیعی از پایین گل‌دان‌ها جهت جلوگیری از تجمع نمک تخلیه می‌شد. این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در با چهار تکرار انجام شد. در پایان آزمایش جهت تعیین وزن خشک، گیاهچه‌ها (ساقه+برگ) به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Keikha et al., 2016).

اندازه‌گیری پرولین

محتوای پرولین گیاهچه‌ها به شیوه باتز و همکاران (Bates et al., 1973) اندازه‌گیری شد. پراکسیداسیون چربی‌ها با اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید به روش تیوباریتیوریک اسید (TBA) تعیین شد. برای این منظور، ۲۰۰ میلی گرم از بافت تازه گیاهچه‌ها با دو میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد (w/v) در هاون چینی سرد و با قرار دادن در ظرف یخ به صورت همگن درآمد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ (یونیورسال PIT320R یخچال دار دور بالا) شد. در ادامه ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی لیتر TBA ۰/۵ درصد در TCA ۲۰ درصد (w/v) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در آب جوش قرار داده شد و واکنش با قرار دادن محلول در یخ متوقف گردید. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰g در دقیقه سانتریفیوژ شدند و میزان جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (Valentovic et al., 2006).

اندازه‌گیری قندهای محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول ۴۰ میلی گرم از بافت تازه گیاهچه در لوله‌های پلی اتیلن با پنج میلی لیتر اتانل ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (بنماری) با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. عصاره الکلی به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید و محلول شفاف به دست آمده حاوی قندهای محلول به یک بشر منتقل شد. بشر محتوی قندهای محلول را به مدت یک ساعت در

نظیر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و متوسط زمان جوانه‌زنی در سطح شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به تیمار شاهد (شوری صفر) به ترتیب کاهش ۶۹، ۶۲ و ۵۹ درصدی را نشان دادند (جدول ۲). محققین نشان دادند که جوانه زنی به شکل مستقیم وابسته به میزان جذب آب بوده و با افزایش شوری در محیط رشد به تأخیر می‌افتد. این بازاری ناشی از تنش اسمزی و یا اثرات سمی یونی است (Munns et al., 1988). شوری از طریق کند کردن و یا کاهش تجزیه مواد ذخیره ای بذرها، موجب توقف تقسیم سلولی، طولیل شدن و صدمه به هیپوکوتیل می‌شود (Khajeh-Hosseini et al., 2003).

در رابطه با اثرات متقابل چند گانه، تنش شوری وزن خشک گیاهچه‌های کلزا را کاهش داد. در بالاترین سطح شوری، وزن خشک گیاهچه‌های اکایی و هایولا ۴۰۱ در بذره‌های پرایم شده ۰/۱۴ و ۰/۱۹ میلی گرم، درحالی که در بذره‌های پرایم نشده این مقادیر به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۶ میلی گرم بود. از این رو تیمار پرایمینگ، وزن خشک گیاهچه‌ها را تحت شرایط شوری در مقایسه با عدم پرایمینگ بهبود بخشید (جدول ۳).

بر حسب میلی گرم بر گرم بافت تازه گیاهچه در دقیقه محاسبه شد (Ghanati et al., 2002). تجزیه داده‌ها در هر دو مرحله آزمایش با نرم افزار MSTAT-C و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی خصوصیات جوانه‌زنی

بررسی اثرات اصلی تیمارهای اعمال شده نشان داد که تیمار شوری بر صفات مطالعه شده در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. در میان اثرات متقابل نیز، برهم کنش سه جانبه رقم × پرایمینگ × شوری بر درصد جوانه‌زنی نهایی، متوسط زمان جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

با افزایش سطح شوری کلیه صفات بررسی شده به‌طور خطی کاهش نشان دادند. وزن خشک گیاهچه از ۷۴/۴ میلی گرم در سطح شوری صفر، با کاهش ۵۶/۸ درصدی به ۳۲/۱۱ میلی گرم در سطح شوری ۱۵۰ میلی مول رسید. سایر صفات بررسی شده

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایش بر صفات جوانه‌زنی در کلزا

Table 1- Analysis of variance of experimental treatments on germination traits in rapeseed

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی D.F.	درصد جوانه‌زنی نهایی FGP	سرعت جوانه‌زنی GR	متوسط زمان جوانه‌زنی MGT	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight
رقم Cultivar	1	220.11 ^{ns}	1.82 ^{ns}	6.9 ^{ns}	7.16 ^{ns}
پیش تیمار Priming	1	17.04 ^{ns}	0.142 ^{ns}	7.41 ^{ns}	7.94 ^{ns}
شوری Salinity (dS/m)	3	1.85 ^{**}	15.9 ^{**}	0.034 ^{**}	0.251 ^{**}
C×P	1	4.55 ^{ns}	20.89 ^{ns}	0.056 ^{ns}	0.054 ^{ns}
C×S	3	3.36 ^{ns}	28.9 ^{ns}	0.049 ^{ns}	0.024 ^{ns}
P×S	3	3.9 ^{ns}	16.46 ^{ns}	0.021 ^{ns}	0.025 ^{ns}
C×P×S	3	392.7 ^{**}	12.94 ^{ns}	10.7 ^{**}	0.13 ^{**}
خطا Error	48	31.18	1.3	0.7	0.017
ضریب تغییرات (درصد) %CV		7.9	12.1	9.5	8.7

** معنی دار در سطح یک درصد

** indicate significant at 1% probability level.

MGT, GR and FGT abbreviated of Mean Germination Time, Germination Rate and Final Germination Percentage, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمار شوری بر صفات جوانه‌زنی و وزن خشک کلزا

Table 2- Mean comparison of salinity on germinating traits and seedling dry weight of rapeseed

سطح شوری (میلی مولار)	وزن خشک گیاهچه (میلی گرم)	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	سرعت جوانه‌زنی (بذر/روز)	درصد جوانه‌زنی نهایی
Salinity level (mM NaCl)	Seedling dry weight (mg)	MGT (1/day)	GR (seed/day)	FGP (%)
0	75.4 a	0.61 a	12.5 a	100 a
50	60.21 b	0.48 b	8.33 b	92.12 b
100	45.32 c	0.39 c	6.68 c	86.64 c
150	32.11 d	0.25 d	4.73 d	31.3 d

MGT, GR and FGP به ترتیب مخفف متوسط زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی نهایی می‌باشند.

MGT, GR and FGP abbreviated of mean germination time, growth rate and final germination percentage, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین برهم کنش تیمارهای آزمایش بر صفات جوانه‌زنی و وزن خشک دو رقم کلزا در سطوح مختلف شوری

Table 3- Mean comparison of the interaction of experimental treatments on germinating traits and seedling dry weight of two cultivars of rapeseed in different levels of salinity

سطح شوری (میلی مولار)	پیش تیمار	هاپولا (۴۰۱)		اکاپی		هاپولا (۴۰۱)		اکاپی	
		اکاپی	هاپولا (۴۰۱)	اکاپی	هاپولا (۴۰۱)	اکاپی	هاپولا (۴۰۱)	اکاپی	هاپولا (۴۰۱)
Salinity level (mM NaCl)	Priming	Ocapi	Hayola 401	Ocapi	Hayola 401	Ocapi	Hayola 401	Ocapi	Hayola 401
0	NP	0.32 a	0.35 a	2.6 e	2.6 e	96.1 a	97.2 a		
	P	0.33 a	0.37 a	2.1 de	2.9 de	97.3 a	97.1 a		
50	NP	0.26 b	0.27 ab	3.2 d	2.7 e	95.1 a	97.1 a		
	P	0.29 ab	0.26 ab	3.3 d	2 e	93.6 a	95.3 a		
100	NP	0.17 d	0.20 c	7.2 b	6.2 b	80.1 c	83.5 c		
	P	0.24 b	0.23 b	5.3 c	4.1 c	89.3 b	91.2 ab		
150	NP	0.11 f	0.16 d	8.9 a	8.3 ab	52.1 e	68.3 d		
	P	0.14 e	0.19 c	6.9 b	4.8 c	75.5 d	84 c		

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

The same letters in each column indicate an insignificant difference at the $P=0.05$ level.

NP and P, abbreviated of non-priming and priming, respectively

جوانه‌زنی بذرها اثر مثبت داشت و این اثر احتمالاً به دلیل اثرات تحریک‌کنندگی پرایمینگ بر مراحل اولیه فرآیند جوانه‌زنی از طریق دخالت در تقسیم سلولی بذرها در حال جوانه‌زدن می‌باشد (Sivritepe et al., 2003). گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان می‌دهد پرایمینگ می‌تواند جوانه‌زنی بذرها را در یک مدت کوتاه همگن سازد (Ruan et al., 2002;)

شوری موجب افزایش زمان جوانه‌زنی بذرها شد. پرایمینگ بذور، متوسط زمان جوانه‌زنی هر دو رقم کلزا را کاهش داد. بذرها پرایم شده تحت شرایط شوری زودتر از بذرها پرایم نشده جوانه زدند. بذرها پرایم شده رقم هایولا ۴۰۱ تحت شوری ۱۵۰ میلی‌مول، متوسط زمان جوانه‌زنی کم‌تری (۴/۸ روز) نسبت به رقم اکاپی (۶/۹ روز) داشتند. پرایمینگ بر هم‌زمانی

می شود (Ascherman-Koch et al., 1992). طولی و همکاران (Taviliet et al., 2008) نیز گزارش دادند که پیش تیمار بذرهاى علف شور با اسید جیبرلیک و نیترا تپتاسیم باعث افزایش شاخص های جوانه زنی شد. آن ها بیان داشتند پیش تیمار بذور سبب تسریع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها، فعال نمودن ژن های کد کننده آنزیم های دخیل در جوانه زنی بذر به ویژه آلفا آمیلاز می شود و بذر را برای جوانه زنی آماده تر می کند.

بررسی خصوصیات گیاهچه ای

بررسی تیمارهای اصلی در این بخش نشان داد که تأثیر تیمار شوری بر وزن خشک گیاهچه، غلظت قندهای محلول و مالون دی آلدئید در سطح احتمال پنج درصد و بر میزان فعالیت آنتی اکسیدان ها در سطح آماری یک درصد معنی دار بوده، در عین حال بر میزان تغییرات پرولین معنی دار نبود (جدول ۴).

(Damirkaya et al., 2006). هم چنین گزارش شده است پیش تیمار با نیترا تپتاسیم باعث توزیع مواد فتوسنتزی بیش تر به اندام های هوایی و افزایش فعالیت ساکارز سنتتاز و گلو تامین سنتاز می شود که در نتیجه باعث افزایش درصد و سرعت جوانه زنی و ظهور سریع تر گیاهچه می شود (Omidi et al., 2005). شوری درصد جوانه زنی نهایی را در بذرهاى پرایم شده و نشده کاهش داد و با افزایش سطح؛ میزان کاهش، بیش تر بود. تیمار پرایمینگ اثرات زیان آور شوری را بر درصد جوانه زنی در مقایسه با بذرهاى پرایم نشده کاهش داد (جدول ۳). بیش ترین و کم ترین درصد جوانه زنی در شوری ۱۵۰ میلی مول نمک طعام با ۸۴ و ۵۲/۱ درصد به ترتیب مربوط به بذرهاى پرایم شده و پرایم نشده، هابولا ۴۰۱ و اکاپی بود (جدول ۳). بذرهاى پرایم شده از کارآیی بالاتری در جذب آب از محیط رشد برخوردار بودند، و بدیهی است که فعالیت های متابولیکی این دسته از بذرها در طی فرآیند جوانه زنی بسیار زودتر از ظهور ریشه چه و ساقه چه آغاز

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای آزمایش بر صفات مورد مطالعه در کلزا

Table 4- Analysis of variance of experimental treatments on studied traits in rapeseed

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	قندهای محلول کل Total Soluble Sugars	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	پرولین Proline	مالون دی آلدئید MDA
رقم Cultivar	1	76.89 ^{ns}	37.8 ^{ns}	0.034 ^{ns}	0.251 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.016 ^{ns}
پیش تیمار Priming	1	12.7 ^{ns}	15.9 ^{ns}	0.059 ^{ns}	0.187 ^{ns}	0.054 ^{ns}	0.024 ^{ns}
شوری Salinity (dS/m)	3	21.67 [*]	39.7 [*]	0.047 ^{**}	0.34 ^{**}	0.061 ^{ns}	0.042 [*]
C×P	1	21.67 ^{ns}	9.7 ^{ns}	0.87 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.096 ^{ns}	0.80 ^{ns}
C×S	3	11.14 [*]	8.88 [*]	0.196 ^{**}	0.806 ^{**}	0.021 [*]	0.042 [*]
P×S	3	11.96 ^{**}	5.602 ^{**}	0.202 ^{**}	0.712 ^{**}	0.037 [*]	0.019 [*]
C×P×S	3	11.42 [*]	9.8 ^{**}	0.62 ^{**}	1.71 ^{**}	0.214 ^{**}	1.23 ^{**}
خطا Error	48	0.53	9.5	0.07	0.62	0.38	1.3
ضریب تغییرات (درصد) %CV		9.11	11.4	12.6	10.3	8.9	10.7

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد

× and ** indicate significant at 5 and 1% probability level, respectively. MDA abbreviated of Malonodialdehyde

دقیقه در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار رسید و افزایش ۱۱۷ درصدی را نشان داد (جدول ۵). قندهای محلول نیز با افزایش غلظت شوری تغییر قابل توجهی را نشان دادند و از ۲/۳۸ میلی گرم بر گرم وزن خشک در سطح شوری صفر به صورت خطی، تا ۵/۷۵ میلی گرم بر گرم وزن خشک در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار نمک طعام رسید. غلظت مالون دی آلدئید نیز که به عنوان شاخص بروز خسارت به غشاهای سلولی معرفی می شود نیز با افزایش سطح شوری، از ۰/۰۱۶ میکرومول بر گرم وزن تازه در تیمار شاهد به ۰/۱۸۸ میکرومول بر گرم وزن تازه در سطح شوری ۱۵۰ میلی مول رسید (جدول ۵).

با افزایش سطح شوری وزن خشک گیاهچه از ۱/۳۷ گرم در تیمار شاهد (شوری صفر) به ۰/۹۴ گرم در سطح شوری ۱۵۰ میلی مول کاهش یافت (جدول ۵). بیش ترین فعالیت آنتی اکسیداتی در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار مشاهده شد. به طوری که فعالیت کاتالاز از ۴/۰۷ میلی گرم آب اکسیژنه بر گرم پروتئین در دقیقه با افزایش ۸۶ درصد به ۷/۶ میلی گرم آب اکسیژنه بر گرم پروتئین در دقیقه در سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار رسید. فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز تغییر چشمگیری نشان داد به طوری که از ۸/۸ میلی گرم آب اکسیژنه بر گرم پروتئین در دقیقه در سطح شوری صفر به ۱۹/۱ میلی گرم آب اکسیژنه بر گرم پروتئین در

جدول ۵- مقایسه میانگین تأثیر تیمار شوری بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و وزن خشک کلزا

Table 5- Mean comparison of salinity on some physiological traits and dry weight of rapeseed

سطح شوری (میلی مولار) Salinity level (mM NaCl)	وزن خشک گیاهچه (گرم) Seedling dry weight (g)	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme (mgH ₂ O ₂ /g.pro/min)	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme (mgH ₂ O ₂ /g.pro/min)	غلظت مالون دی آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تازه) MDA concentration (μmol/g.fw)	قندهای محلول کل Total Soluble Sugars (mg/g.dw)
0	1.37 a	4.07 c	8.8 d	0.0016 c	2.38 d
50	1.32 a	6.17 b	13.33 c	0.0018 c	3.6 c
100	1.18 b	6.95 b	16.1 b	0.0148 b	5.28 a
150	0.94 c	7.6 a	19.1 a	0.0188 a	5.75 a
LSD (P=0.05)	0.11	0.55	2.3	0.0012	0.95

فرآیندهای نمودی را با سرعت بیش تری در مقایسه با بذره‌های پرایم نشده پیش می برند (Kattimani et al., 1999). شواهد بسیاری وجود دارد که نشان می دهد بسیاری از مکانیسم های فیزیولوژیکی در گیر در بذره‌های پرایم شده موجب ترمیم خسارت های سلولی و مولکولی مرتبط با پیری می شوند که طی نمو بذر به وقوع می پیوندد (Burgass & Powell, 1984; Bray, 1995). همین طور بهبودی در توسعه فعالیت های متابولیکی طی مرحله دوم جذب آب (که نسبتاً طولانی است) رخ می دهد و موجب توان مندی خروج ریشه چه می گردد (Dell'Aquila & Beweley, 1989). برخی تغییرات مورفولوژیکی نیز در بذره‌های پرایم شده رخ می دهد که در رشد بعدی جنین سودمند است از جمله نسبت آندوسپرم بذر که طی پرایمینگ هیدرولیز می شود و موجب رشد سریع تر جنین می گردد (Burgass & Powell, 1984). گزارش هایی دال بر اینکه پرایم بذر

اثرات متقابل دو گانه، شوری × پرایمینگ و شوری × رقم و همین طور برهم کنش سه گانه رقم × پرایمینگ × شوری بر وزن خشک گیاهچه و سایر صفات فیزیولوژیکی اندازه گیری شده معنی دار بود (جدول ۴). بررسی اثرات چند گانه نشان داد که وزن خشک گیاهچه در هر دو رقم با افزایش شوری به ویژه در بذره‌های پرایم نشده در مقایسه با بذره‌های پرایم شده به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت (جدول ۶). این رخداد به دلیل تأثیر تنش شوری بر بیوسنتز و جایگاه عمل هورمون های گیاهی است (Munns et al., 1988). به واقع بهبود بنیه بذره‌های پرایم شده احتمالاً به دلیل وضعیت فیزیولوژیکی تغییر یافته جنین می باشد. همین طور می تواند ناشی از رهاسازی آنزیم هایی باشد که موجب افزایش سریع در تولید مواد غذایی محلول می شوند. از این رو سیستم گیاهی در بذره‌های پرایم شده به واسطه از پیش آمادگی، به هنگام کاشت،

¹Lag Phase

موجب کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها در شرایط شوری گردد (Maggio et al., 2002; Bhattacharjee & Mukherjee, 2002). در تحقیق سانچز و همکاران (Sanchez et al., 1998) میزان افزایش پرولین بر اثر تنش خشکی در نخود فرنگی بین ۴ تا ۴۰ برابر گزارش شد، ولی ارتباط معنی‌داری بین افزایش پرولین و تنظیم اسمزی مشاهده نشد، در این بررسی نقش پرولین تخفیف خسارت پسابیدگی بوده است. به‌طور هم‌زمان، غلظت مالون‌دی‌آلدئید هر دو رقم کلزا با افزایش سطح شوری، افزایش یافت (جدول ۶). در هر دو رقم، پرابمینگ بذرها محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ‌ها را در مقایسه با بذرها پرابمینگ نشده بهبود بخشید، با افزایش شوری تا ۱۵۰ میلی‌مول، غلظت مالون‌دی‌آلدئید در بذرها پرابمینگ نشده و پرابمینگ شده رقم اکاپی به ترتیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۱۸ میکرومول بر گرم وزن تازه و برای رقم هایولا ۴۰۱ این مقادیر ۰/۰۱۸ و ۰/۰۱۳ میکرومول بر گرم وزن تازه ثبت شد (جدول ۶). افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و خسارت غشاء سلولی تحت شرایط تنش شوری ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن است.

موجب مضاعف شدن سریع تر DNA، افزایش RNA و سنتز پروتئین، افزایش رشد جنین، و ترمیم بخش‌های خسارت‌دیده بذر و کاهش نشست متابولیت‌ها می‌گردد، وجود دارد (McDonald, 2000). وجود شوری در محیط رشد ریشه گیاهچه‌ها مهم‌ترین دلیل خشکی فیزیولوژیکی و به‌دنبال آن کاهش تقسیم یا طولی شدن سلولی است (Godfery et al., 2004). تنش شوری مقدار پرولین برگ را در هر دو رقم افزایش داد (جدول ۶). اما در رقم هایولا ۴۰۱، اختلاف معنی‌داری بین محتوای پرولین بذرها پرابمینگ شده و نشده در هر سطح شوری مشاهده نشد، البته در رقم اکاپی، پرابمینگ بذرها محتوای پرولین برگ‌ها را در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول در مقایسه با بذرها پرابمینگ نشده افزایش داد (جدول ۶). هاسگاوا و همکاران (Hasegawa et al., 2000) عنوان کردند که، تنظیم اسمزی به تحمل تنش شوری کمک می‌کند. تنظیم اسمزی در گیاهان از طریق سنتز ترکیبات سازگار نظیر پرولین، قندها و اسیدهای آلی صورت می‌گیرد. سایر تحقیقات نشان داده که پرولین ممکن است به عنوان یک محافظ آنزیمی عمل کند و

جدول ۶- مقایسه میانگین برهم کنش تیمارهای آزمایش بر برخی صفات فیزیولوژیکی و وزن خشک دو رقم کلزا

Table 6- Mean comparison of the interaction of experimental treatments on some physiological traits and seedling dry weight of two cultivars of rapeseed

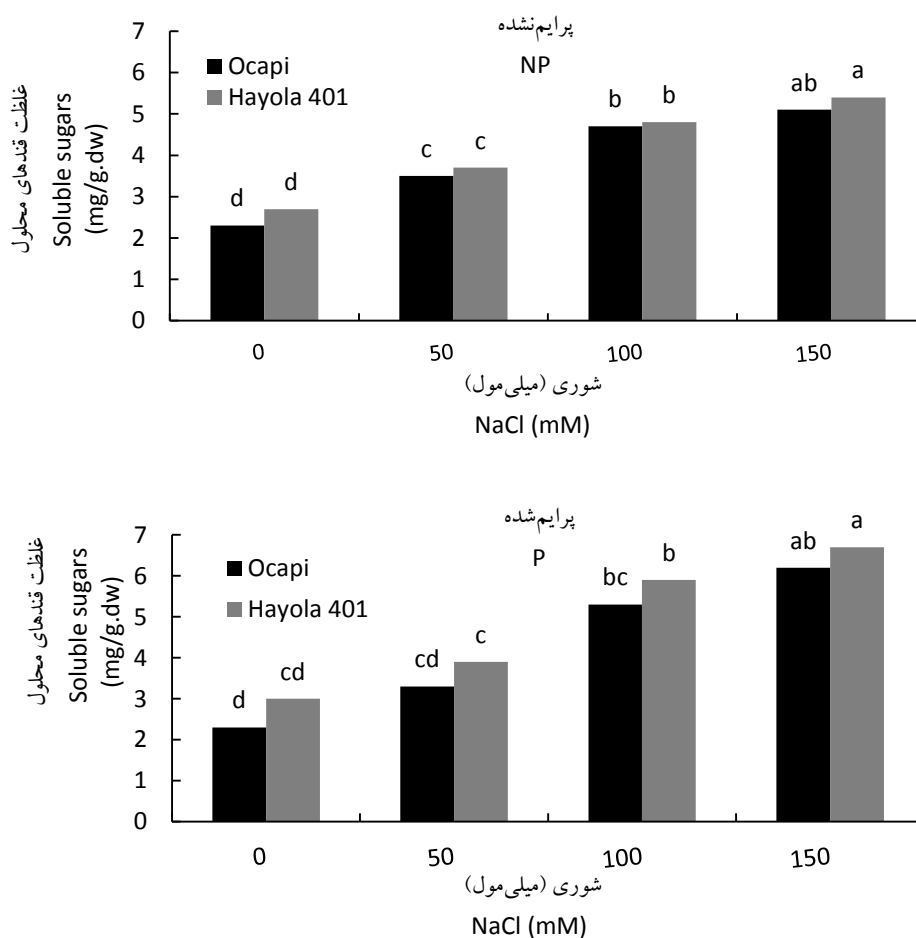
سطح شوری (میلی‌مولار) Salinity level (mM NaCl)	پیش تیمار Priming	اکاپی	هایولا (۴۰۱)	اکاپی	هایولا (۴۰۱)	اکاپی	هایولا (۴۰۱)
		Ocapi	Hayola 401	Ocapi	Hayola 401	Ocapi	Hayola 401
	وزن خشک گیاهچه (گرم)	Seedling dry weight (g)	وزن خشک گیاهچه (گرم)	Seedling dry weight (g)	غلظت پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Proline concentration (mg/g.fw)	غلظت پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Proline concentration (mg/g.fw)	غلظت مالون دی‌آلدئید (میکرومول بر گرم وزن تازه) MDA concentration (μmol/g.fw)
	1.4 a	1.36 a	0.54 ef	0.39 g	0.0016 d	0.0016 d	0.0016 d
0	P	1.35 a	1.39 a	0.47 f	0.37 g	0.0016 d	0.0015 d
	NP	1.31 a	1.25 a	0.57 e	0.69 d	0.0017 d	0.0019 d
50	P	1.32 a	1.3 b	0.59 e	0.61 ed	0.0018 d	0.0016 d
	NP	1.1 d	1.13 d	0.98 d	1.52 b	0.020 a	0.017 b
100	P	1.21 cd	1.27 c	1.28 c	1.98 b	0.012 c	0.010 c
	NP	0.76 f	0.80 ef	1.52 b	2.47 ab	0.026 a	0.018 b
150	P	1.08 e	1.14 d	2.61 a	2.83 a	0.018 b	0.013 c

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

The same letters in each column indicate an insignificant difference at the $P=0.05$ level.

معنی داری با یکدیگر نداشتند. سایر محققین افزایش قندهای محلول را در شرایط تنش شوری، خشکی و سرما در بذره‌های ذرت (Razani et al., 2016)، برنج (Gholami Tilehbeni et al., 2016; Wang et al., 2010)، پنبه (Ramazanzadeh Sarasti et al., 2011) گزارش کردند.

محتوای قندهای محلول برگ‌های هر دو رقم در بذره‌های پرآیم شده و نشده با افزایش شوری، افزایش یافت (شکل ۱)، اما در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول شوری، غلظت قندهای محلول در بذور پرآیم شده در مقایسه با بذره‌های پرآیم نشده بیش تر بود. مقایسه محتوای قندهای محلول بذره‌های ارقام در هر سطح شوری، صرف نظر از تیمار پرآیم‌نگ به لحاظ آماری تفاوت



شکل ۱- اثر تنش شوری بر غلظت قندهای محلول در برگ دو رقم کلزای بهاره پرآیم شده (P) و پرآیم نشده (NP)

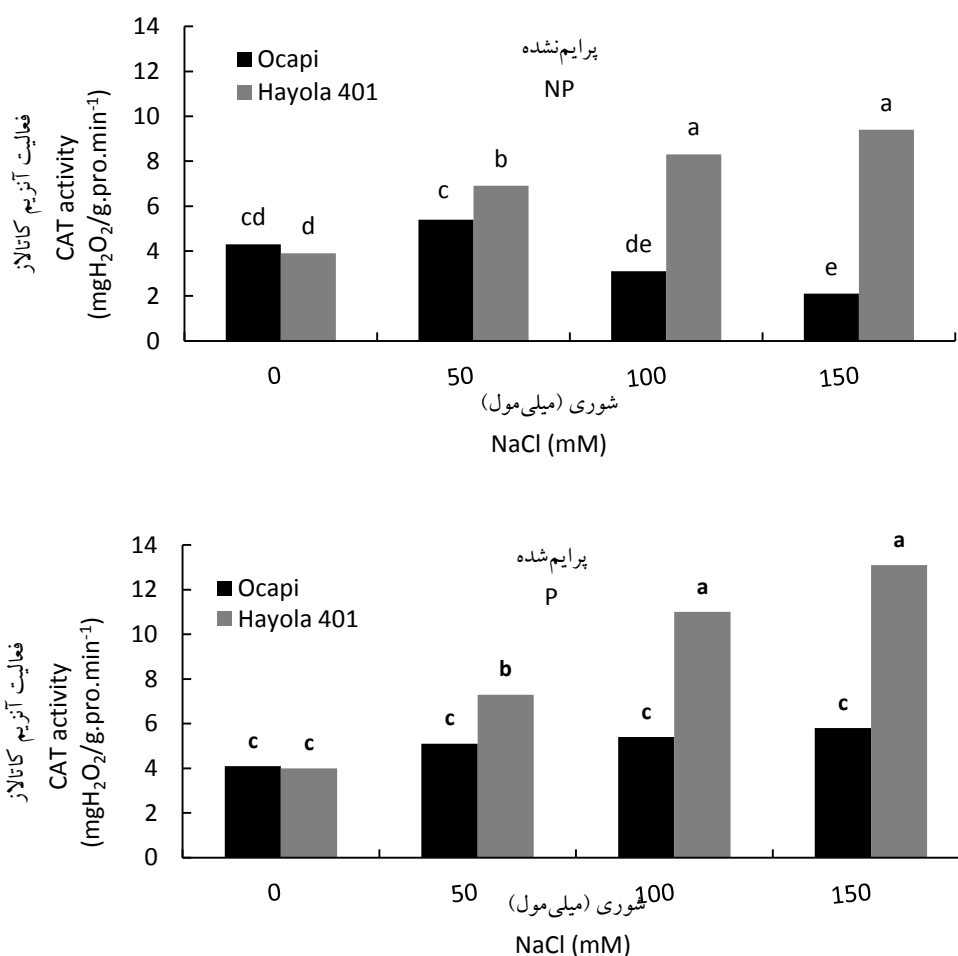
Figure 1- Effect of salt stress on leaves soluble sugars of two primed and non-primed spring rapeseed

با افزایش سطح شوری، فعالیت این آنزیم به طور معنی داری افزایش یافت. پرآیم‌نگ بذرها محتوای این آنزیم را در هر دو رقم افزایش داد. این افزایش در رقم اکاپی؛ از ۲/۱ میلی گرم H_2O_2 بر گرم پروتئین در دقیقه در بذره‌های پرآیم نشده به ۵/۸ میلی گرم H_2O_2 بر گرم پروتئین در دقیقه در بذره‌های پرآیم شده در سطح شوری ۱۵۰ میلی مول رسید و در تیمار نظیر آن در رقم هایولا، فعالیت این آنزیم از ۹/۴ میلی گرم H_2O_2 بر گرم پروتئین

در رابطه با فعالیت کاتالاز اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین دو رقم تحت شرایط شوری مشاهده شد (شکل ۲). مقایسه دو رقم نشان داد که میزان فعالیت کاتالاز در بذره‌های پرآیم شده و نشده رقم هایولا ۴۰۱ در مقایسه با رقم اکاپی بیش تر بود (شکل ۲)، با افزایش سطح شوری در بذره‌های پرآیم نشده اکاپی میزان فعالیت کاتالاز به طور چشمگیری کاهش یافت و به پایین ترین مقدار در سطح شوری ۱۵۰ میلی مول رسید. حال آن که در رقم هایولا ۴۰۱

دفاعی آنتی اکسیدانتی را در هر دو رقم راه اندازی کرد.

در دقیقه به ۱۳/۱ میلی گرم H_2O_2 بر گرم پروتئین در دقیقه افزایش یافت. از این رو تیمار پرایمینگ به شکل کارآمدی فعالیت سیستم



شکل ۲- اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ دو رقم کلزای بهاره پرایم شده (P) و پرایم نشده (NP)

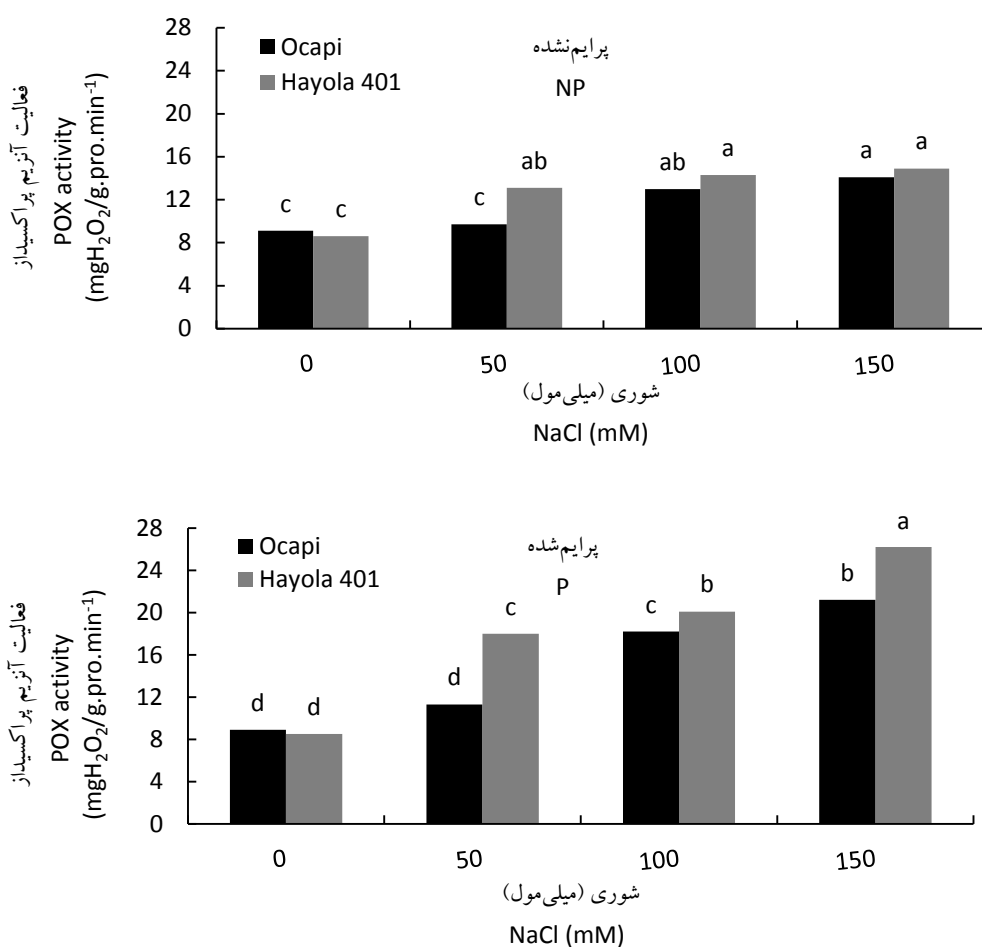
Figure 2- Effect of salt stress on leaves catalase enzyme activity of two primed and non-primed spring rapeseed

دادند که شرایط زیان آور محیطی نظیر شوری منجر به بروز تنش های ثانویه اکسیداتیو می شوند (Munns & James, 2003; Ashraf & Ali, 2008; Munns, 2002). سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی می تواند سلول های گیاهی را در قبال خسارت های اکسیداتیو حمایت کند. کاتالاز و پراکسیداز از مهم ترین آنزیم های حفاظتی در مقابل گونه های فعال اکسیژن هستند. همبستگی بین فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدانتی و تحمل به شوری در بسیاری از گیاهان گزارش شده است (Munns, 2002; Moosavi et al., 2009).

به لحاظ فعالیت پراکسیداز در بذرها پرایم نشده هر دو رقم، در غلظت های بالای شوری (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول) اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳). در مقابل، تیمار پرایمینگ موجب افزایش قابل ملاحظه فعالیت این آنزیم در هر دو رقم تحت تنش شوری گردید. البته میزان فعالیت این آنزیم در رقم هایولا ۴۰۱ بیش از رقم اکاپی بود (شکل ۳). می توان اظهار کرد که همبستگی بسیار قوی بین تحمل به شوری و فعالیت آنتی اکسیدانتی حاصل از پرایمینگ وجود دارد، زیرا بذرها پرایم شده وزن خشک و فعالیت آنزیمی بیش تری را در شوری های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول نشان دادند. محققین گزارش

به دنبال آن افزایش سرعت سنتز در بافت جنین باشد. افزایش در سرعت سنتز DNA در بذرهای پیش تیمار شده، تنها پس از شش تا ۱۲ ساعت پس از اعمال پیش تیمار گزارش شده است (Bray et al., 1989). کاهش غلظت مالون دی آلدئید در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول نمک طعام ناشی از افزایش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در بذرهای پریم شده است. اشرف و علی (Ashraf & Ali, 2008) گزارش دادند که فعالیت های آنزیمی آنتی اکسیدانتی نظیر کاتالاز و پراکسیداز تحمل به شوری در گیاهچه های کلزا را بهبود بخشیده است.

نیز نشان دادند پیش تیمار بذرهای گل همیشه بهار^۱ فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت، به خصوص کاتالاز و پراکسیداز را در مقایسه با بذرهای پریم نشده افزایش می دهد. در مطالعه فرهودی و همکاران (Farhoudi et al., 2011) بر گیاه خربزه^۲ نیز مشخص شد که گیاهچه های حاصل از بذرهای پیش تیمار شده در مقایسه با گیاهچه های رشد یافته از بذرهای پیش تیمار نشده، فعالیت کاتالاز بیش تری داشتند. دلیل افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت در اثر پیش تیمار، می تواند در اثر ساخت DNA در جنین در مدت پیش تیمار و در غیاب سلول های تقسیم شونده و



شکل ۳- اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ دو رقم کلزای بهاره پرایم شده (P) و پرایم نشده (NP)

Figure 3- Effect of salt stress on leaves peroxidase enzyme activity of two primed and none-primed spring rapeseed

(جدول ۷)؛ همین طور در صدد جوانه زنی نیز همبستگی مثبت و معنی داری با فعالیت آنزیم کاتالاز ($r=0.78^{**}$) و پراکسیداز

سرعت جوانه زنی همبستگی مثبت و معنی داری با فعالیت آنزیم کاتالاز ($r=0.79^{**}$) و پراکسیداز ($r=0.77^{**}$) داشت

¹ *Calendula officinalis*

² *Cucomin melon*

جوانه زنی بالاتری در مقایسه با گیاهچه های تیمار نشده نشان دادند. در تحقیقی دیگر نشان داده شد که فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در بذره های پرایم شده گیاه وسمه^۱ به صورت قابل توجهی افزایش و خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش شوری بسیار کاهش یافت (Jiang et al., 2020). مطالعه روابط همبستگی (جدول ۷) نشان داد که اثر پرایمینگ بر افزایش فعالیت آنزیم ها موجب بهبود درصد و سرعت جوانه زنی و کاهش متوسط مدت جوانه زنی شده است.

($r=0.74^{**}$) نشان داد، به طوریکه با افزایش فعالیت این دو آنزیم سرعت و درصد جوانه زنی به طور معنی داری افزایش یافتند (جدول ۷). به نظر می رسد که استفاده از پیش تیمار نیترا تپتاسیم باعث افزایش فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز شده که در نتیجه آن درصد و سرعت جوانه زنی بهبود یافت. Hmadpour Dehkordi & Balouchi (2012) گزارش دادند پیش تیمار بذرسياه دانه با سالیسیلیک اسید، نیترا تپتاسیم و آب مقطر، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، درصد و سرعت

جدول ۷- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در کلزا

Table 7- The simple correlation coefficient among studied traits in Rapeseed seed

	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	متوسط زمان جوانه زنی Mean germination time	سرعت جوانه زنی Germination rate	درصد نهایی جوانه زنی Final germination percentage
فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase activity enzyme	1				
فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity enzyme	0.41	1			
متوسط زمان جوانه زنی Mean germination time	-0.65 ^{xx}	-0.62 ^x	1		
سرعت جوانه زنی Germination rate	0.79 ^{xx}	0.77 ^{xx}	-0.48 ^x	1	
درصد نهایی جوانه زنی Final germination percentage	0.78 ^{xx}	0.74 ^{xx}	-0.62 ^x	0.83 ^{xx}	1

^x و ^{xx} به ترتیب معنی دار در سطح پنج و یک درصد

^x and ^{xx} indicate significant at 5 and 1% probability level, respectively.

است. اختلاف رفتار رقم مشاهده شده در این تحقیق نتیجه اختلاف ژنتیکی بوده و بیان گر آن است که این صفات ممکن است برای انتخاب ژنتیکی بین ارقام به کار رود. علاوه بر این، تکنیک پرایمینگ سودمندی های دیگری نظیر آسان و کم هزینه بودن را دارا است. شایان ذکر است تکنیک پرایمینگ با KNO_3 و دیگر شیوه های پرایمینگ نیاز به مطالعات بیش تری در خصوص دیگر گیاهان روغنی در شرایط مزرعه جهت حصول نتایج ارزشمند دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از ریاست محترم دانشکده کشاورزی و کارشناسان آزمایشگاه تکنولوژی بذر قدردانی می گردد.

نتیجه گیری

بهبود در رشد گیاهچه، توسعه و استقرار آن با کارایی جذب آب گیاهچه های به دست آمده از بذره های پرایم شده همبستگی دارد. در این تحقیق بذره های پیش تیمار شده بوسیله KNO_3 درصد جوانه زنی بالاتر، متوسط زمان جوانه زدن کمتر و گیاهچه های قوی تر تولید کردند، ضمن این که تعداد گیاهچه های استقرار یافته در واحد سطح نیز بیش تر بود. بنابراین پیش تیمار کردن با نیترا تپتاسیم ممکن است یک روش کارآمد جهت غلبه بر مشکلات جوانه زنی و بهبود رشد گیاهچه در مزرعه به خصوص در شرایط شوری باشد. در بذره های پرایم شده، فعالیت های آنزیمی آنتی اکسیداتیو و حفاظت اسمزی افزایش و غلظت مالون دی آلدئید کاهش یافت، که نشان از فعال شدن سیستم دفاعی در مقابل تنش شوری به واسطه پرایمینگ بوده

¹ *Isatis tinctoria* L.

تعارض منافع

نویسنده این مقاله اعلام می‌دارد که هیچ گونه تعارض منافی در رابطه با نگارش و یا انتشار این مقاله ندارد.

منابع

- Damirkaya, M., Okgu, G., Atak, G.Y., & Kolsarici, O. (2006). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24, 291-95. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2005.08.001>
- Dawood, M.G. (2018). Stimulating Plant Tolerance Against Abiotic Stress Through Seed Priming. In A. Rakshit, & H. Singh (Eds.), *Advances in Seed Priming*, Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0032-5_10
- Ellis, R.A., & Roberts, E.H. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science & Technology*, 9, 373-409.
- Farhoudi, R., & Motamedi, M. (2010). Effect of salt stress and seed size on germination and early seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Seed Science & Technology*, 38, 73-78. <https://doi.org/10.15258/sst.2010.38.1.07>
- Farhoudi, R., Saeedipour, S., & mohammadreza, D. (2011). The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, and proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 1363-1370.
- Farooq, S., & Azam, F. (2006). The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. *Journal of Plant Physiology*, 163, 629-637. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.006>
- Ghanati, F., Morita, A., & Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cell. *Soil Science & Plant Nutrition*, 48, 357-364. <https://doi.org/10.1080/00380768.2002.10409212>
- Gholami Tilehbeni, M., Babayan, S., Mosavinik, M., & Ahmadian, A. (2010). Evaluation of heterotrophic growth of rice seedling and proline and solution sugars Concentrations changes under seed deterioration levels. In 5th National Conference on New Ideas in Agriculture. <https://civilica.com/doc/129156>
- Gholami, S., Salehi, A., & Moradi, A. (2015). Effects of maternal plant nutrition on the absorption of some nutritional elements and germination characteristics of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 4(1), 119-118. [In Persian]
- Godfery, W.N., Onyango, J.C., & Beck, E. (2004). Sorghum and salinity. II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Science*, 44, 806-11. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.8060>
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., & Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annals Review of Plant Physiology*, 51, 463-499. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.51.1.463>
- Abraha, B., & Yohannes, G. (2013). The role of seed priming in improving seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under salt stress at field conditions. *Agricultural Science*, 4, 666-672. <https://doi.org/10.4236/as.2013.412089>
- Aebi, H.E. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105, 121-126.
- Aghbolaghi, M.A., & Sedghi, M. (2014). The effect of halo and hydro priming on germination characteristics of millet seeds under salinity stress. *Cercetări Agronomice în Moldova*, 47(2), 41-48.
- Ahmadpour Dehkordi, S., & Balouchi, H.R. (2012). Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress. *Electronic Journal of Crop Production*, 5(4), 63-85. [In Persian]
- Ansari, K., Salehi, A., Movahedi Dehnavi, M., & Heidari, S. (2018). Investigating the effect of different seed treatments on germination and activity of some antioxidant enzymes of *Echinaceae purpurea* L. *Iranian Journal of Seed Science & Research*, 3(3), 1-10. [In Persian]
- Ascherman-Koch, C., Hofmann, P., & Steiner, A.M. (1992). Pre-sowing treatment for improving quality in cereals. I. Germination and vigour. *Seed Science & Technology*, 20, 435-40.
- Bates, L.S., Waldre, R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205-208. <https://www.jstor.org/stable/42932378>
- Bhattacharjee, S., & Mukherjee, A.K. (2002). Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science & Technology*, 30, 279-287. <https://www.researchgate.net>
- Burgass, R.W., & Powell, A.A. (1984). Evidence for repair processes in invigoration of seeds. *Annals Botany*, 53, 753-57. <https://www.jstor.org/stable/42757439>
- Christos, A., Spyridon, D., Koutroubas, D., & Fotiadis, S. (2019). Hydro-Priming Effects on Seed Germination and Field Performance of *Faba bean* in Spring Sowing. *Agriculture*, 9 (9), 201. <https://doi.org/10.3390/agriculture9090201>

- Hedge, J.E., & Hofreiter, B.T. (1962). Carbohydrates Chemistry (17th Ed.). Academic Press.
- Ibrahim, E.A. 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *Journal of Plant Physiology*, 192, 38-46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Ikic, I., Maricevic, M., Tomasovic, S., Gunjaca, J., Atovic, Z.S., & Arcevic, H.S. (2012). The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheat. *Euphytica*, 188, 25-34. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0735-8>
- Jiang, X.W., Zhang, C.H., Wang, C.R., Xu, G.H., & Zhang, H.Y. (2020). Seed Priming Improves Seed Germination and Seedling Growth of *Isatis indigotica* Fort. Under salt stress. *Horticultural Science*, 55(5), 647-650. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14854-20>
- Jumsoon, K., Jeonlai, C., & Ywonok, J. (1996). Effect of seed priming on the germinability of tomato (*Lycopersicon sculentum* Mill.) seeds under water and saline stress. *Journal of Korean Society & Horticulture Science*, 37, 516-21. Corpus ID: 86924968
- Kattimani, K.N., Reddy, Y.N., & Rajeswar Rao, B. (1999). Effect of pre-sowing seed treatment on germination, seedling emergence, seedling vigour and root yield of Ashwagandha (*Withania somnifera* Daunal.). *Seed Science & Technology*, 27, 483-88.
- Kaur, S., Gupta, A.K., & Kaur, N. (2006). Effect of hydro and osmo-priming of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds on anzymes of sucrose and nitrogen metabolism in nodules. *Plant Growth Regulation*, 49, 177-182. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9103-9>
- Keikha, M., Noori, M., & Keshtegar, A. (2016). Effect of salicylic acid and gibberellin on yield and yield components of Mungbean (*Vigna radiata*). *Iranian Journal of Pulses Research*, 7(2), 138-151. <https://doi.org/10.22067/ijpr.v7i2.45907>
- Khajeh-Hosseini, M., Powel, A.A.I., & Bingham, I.J. (2003). The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soybean seeds. *Seed Science & Technology*, 31, 715-725. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.20>
- Maggio, A., Dalton, F., & Piccinni, G. (2002). The effect of elevated carbon dioxide on static and dynamic induced for tomato salt tolerance. *European Journal of Agronomy*, 16, 197-206. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(01\)00128-9](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(01)00128-9)
- McDonald, M.B. (2000). Seed priming. In M. Black & J.D. Bewley (Eds.), *Seed Technology & Biological Basis* (pp. 287-325), Sheffield Academic Press.
- Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F., & Ayneband, A. (2009). Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. *Journal of Food and Agronomy Environment*, 7(34), 353-358.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment*, 25, 239-250. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x>
- Munns, R., & James, R.A. (2003). Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant & Soil*, 253, 201-218. <https://doi.org/10.1023/A:1024553303144>
- Munns, R.A., Gardrer, M.L., & Rawson, H.M. (1988). Growth and development in NaCl treated plants. II. Do Na⁺ or Cl⁻ concentrations in dividing or expanding tissue determine growth in barley. *Australian Journal of Plant Physiology*, 15, 529-40. <https://doi.org/10.1071/PP9880529>
- Omidi, H., Soroush-zadeh, A., Salehi, A., & Ghezeli, F. (2005). Evaluation of osmo-priming pretreatments on germination of rapeseed. *Agricultural Science & Technology*, 19(2), 1-10.
- Paraver, A., Omidi Sadat, H., Ehsannezhad, H., & Amirzadeh, M. (2015). Effect of hydro priming on coneflower (*Echinacea purpurea*) seed germination and seedling growth under salt stress. *Journal of Seed Ecophysiology*, 1(1), 57-69. <https://doi.org/10.22077/SEJ.2015.370>
- Parker, R.E. (1973). *Introductory Statistics for Biology*, Edward Arnold.
- Ramezanzadeh Sarasti, N. (2011). Investigating mechanisms of deterioration in cotton seed: lipid peroxidation and hydrolysis of sugars. Master's Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources.
- Razani M., Mir Mohammadi, T., & Jalilnejad, N. (2016). The effect of polyethylene glycol surfaces on biochemical properties and dry weight of maize plant seed. Third Conference on New Findings in the Environment and Agricultural Ecosystems. New Energy and Environment Institute, University of Tehran. <https://civilica.com/doc/586845/>
- Ruan, S., Xue, Q., & Tytkowska, K. (2002). The influence of priming on germination of rice (*Oryza sativa* L.) seed and seedling emergence and performance in flooded soil. *Seed Science & Technology*, 30, 61-67. Corpus ID: 82067394

- Sanchez, F.J., Manzanarcs, M., Andres, R.F., Tcrnorio, J.L., De Ayerbe, L., & De Andres, F.F. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop Research*, 59, 225-235.
- Shaaban, M. (2016). Effect of aging on enzymatic and non-enzymatic antioxidant changes and biochemical characteristics in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds cv. Valfajr. *Iranian Journal of Seed Science Research*, 3(3), 79-93. [In Persian] <https://doi.org/20.1001.1.24763780.1395.3.3.8.6>
- Shahi, A., Farhoudi, R., & Mosavi, M. (2009). Effect of seed pretreatment on summer squash (*Cucurbita pepo*) seed germination and seedling characteristics under salinity condition. *Seed Science & Biotechnology*, 3(1), 5-11.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., & Eris, A. (2003). The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedling grown under saline condition. *Science Horticulture*, 97, 229-37. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Tavili, A., Safari, B., & Saberi, M. (2008). Comparing the impact of the application of gibberellic acid and potassium nitrate on improving germination characteristics of *Salsols rigida*. *Grassland*, 3(2), 272-280. [In Persian]
- Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovi, L., & Gasparikora, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize. *Plant Soil Environment*, 52 (4), 186-191.
- Verma, S.K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K., & Singh, J. (2005). Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. *Legume Research*, 28(2), 143-145.
- Wang, W., Peng, S., Chen, Q., Mei, J., Dong, H., & Nie, L. (2016). Effects of pre-sowing seed treatments on establishment of dry direct-seeded early rice under chilling stress. *AoB Plants* 8, plw074: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw074>
- Yonesi, A., Bahadori, A., Azadi, M., & Ansari, O. (2013). The effect hydro priming and accelerated ageing on germination parameters and catalase enzyme in *Panucum miliaceum* (*Pennisitum americanum* L.). *Journal of Seed Research*, 3(4), 61-70.