تاثیر پرایمینگ کلرید منیزیم بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی و تغییرات فیزیولوژیک بذر کنجد (*Sesamum indicum* L.) در دماهای مختلف

حوریه توکلی*[۱]، علی عبادی[۲]، پیام تیزفهم[۳]، نصیبه توکلی[۱]

[۱]کارشناسی‌ارشد زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

[۲]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

[۳]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه زراعت، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۰۹

چکیده

تیمارهای مختلف پرایمینگ منجر به افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی گیاهان می‌شوند. به منظور مطالعه اثر پرایمینگ بر تغییرات آنزیمی و جوانه‌زنی بذر کنجد تحت تاثیر دماهای مختلف، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. در این پژوهش، سه تیمار پرایمینگ منیزیم (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار کلرید منیزیم) و سه سطح دما (۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که اثر متقابل تیمار پرایمینگو دما بر سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، پرولین، پروتئین، آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار بود. همچنین دما تاثیر معنی‌دار بر درصد جوانه‌زنی داشت. در دمای ۲۵ درجه کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین مشاهده شد و کاربرد منیزیم توانست اکثر صفات اندازه‌گیری را افزایش دهد. به‌طوری‌که سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و فعالیت‌های آنزیمی در پرایمینگ ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در تمامی دماها بیشتر از سایر تیمارها بود. به نظر می‌رسد کاربرد منیزیم به عنوان پرایمینگ بتواند منجر به افزایش سرعت جوانه‌زنی و بهبود استقرار گیاهچه شده و با افزایش فعالیت آنزیمی، پرولین و پروتئین تحمل تنش‌های محیطی را بیشتر کند.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین، پرولین، سرعت جوانه‌زنی

مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) متعلق به خانواده‌ی Pedaliaceae بوده و به دلیل ویژگی‌های منحصر به فردی که دارد به عنوان ملکه‌ی دانه‌های روغنی محسوب می‌شود (Shashidhara et al., 2011). انتشار این گونه در ایران در بخش‌های مرکزی، شمال غربی، شمال شرقی، غرب و شرق کشورگزارش شده است. دانه کنجد حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی از گروه لیگنان‌ها شامل سزامین، سزامول، سزامولین و فیتواسترول‌ها می‌باشد که درجات بالایی از مقاومت را در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند (George et al., 1987).

*نویسنده مسئول: huriehtavakoli@gmail.com

جوانه‌زنی اولین مرحله نموی گیاهان می‌باشد که اهمیت و حساسیت زیادی دارد و یکفرایند کلیدی در سبز شدن گیاهچه محسوب می‌گردد (De Villiers et al., 1994). این فرایند به شدت تحت تاثیرعوامل محیطی به ویژه دما و رطوبت خاک قرار می‌گیرد (Soltani et al., 2006). اما تاثیر دما بیشتر از رطوبت می‌باشد به طوری که حتی زمانی که شرایط رطوبتی مناسب باشد دما موجب محدودیت در جوانه‌زنی می‌شود (Jordan and Haferkamp, 1989). واکنش جوانه‌زنی نسبت به دما به عوامل متعددی از جمله گونه‌های گیاهی، رقم، منطقه رویش، کیفیت بذر و مدت زمان پس از برداشت بستگی دارد (Copeland and McDonald, 1995). پژوهشگران رابطه خطی بین دما و سرعت جوانه‌زنی را در برخی از گونه‌های گیاهی گزارش کرده‌اند و از رگرسیون خطی برای توصیف رابطه بین دما و سرعت جوانه‌زنی استفاده می‌کنند (Kebrab et al., 1999).

پرایمینگ یکی از روش‌های بهبود کارکرد بذر می‌باشد. در پرایمینگ به بذر اجازه داده می‌شود تا مقداری آب جذب کند، به طوری که مراحل اولیه جوانه‌زنی انجام شود اما ریشه‌چه خارج نگردد. به عبارت دیگر بذرها تا مرحله دوم آبنوشی پیش می‌روند اما وارد مرحله سوم نمی‌شوند. پس از تیمار پرایمینگ، بذرها خشک و همانند بذرهای تیمار نشده (شاهد) ذخیره و کشت می‌شوند (McDonald, 1999). گزارش‌های مختلف نشان می‌دهد که پرایمینگ باعث افزایش درصد، سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی و سبز شدن بذر می گردد (Demir Kaya et al., 2006). (Hus and Sung, 1997) گزارش کردند که پرایمینگ باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل گلوتاتیون و آسکوربات در بذر می‌گردد و این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپیدی در طی جوانه‌زنی را کاهش داده، در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌گردد. پرایمینگ سنتز و فعال شدن اولیه آنزیم‌های هیدرولتیک β آمیلاز و α آمیلاز را نیز تحریک می‌کند (Varier et al., 2010). این آنزیم‌ها با اکسیداسیون مواد غذایی ذخیره‌ای بذر، انرژی مورد نیاز برای جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه را تامین می‌کنند (Gardner et al., 1999). دلیل منطقی برای سودمندی پرایمینگ بذر در مزرعه این است که می‌تواند سبب کاهش زمان لازم برای جوانه‌زنی بذور شده و به گیاهچه نیز اجازه دهد که در طیف وسیعی از شرایط نامساعد خاک رشد کند (Farooq et al., 2008).

منیزیم کاتیونی دو ظرفیتی کوچک با توان بسیار زیاد گیرندگی الکترون می‌باشد. منیزیم با آنزیم‌هایی که در آنها کاتیون‌های پیونددهنده برای برقراری شکل فضایی دقیق میان آنزیم و سوبسترا لازم است، ترکیبات پیچیده سه عنصری را تشکیل می‌دهد. بخش زیادی از کل منیزیم در تنظیم pH سلول و موازنه کاتیون-آنیون دخالت دارد (Marschner, 1995). یکی از مهمترین نقش‌های منیزیم اتم مرکزی مولکول کلروفیل است (Follett et al., 1981). غلظت‌های زیاد منیزیم و پتاسیم در کلروپلاست و سیتوپلاسم برای نگهداری pH بالای این اندامک‌ها ضروری می‌باشد. اثر pH بر ساختمان پروتئین و در نتیجه فعالیت آنزیم به تنظیم شدید pH مخزن سوخت و سازی بستگی دارد. کاتیون‌هایی مانند منیزیم و پتاسیم این نقش تنظیمی را ایفا می‌کند. همچنین در مخزن سوخت و سازی منیزیم برای خنثی کردن اسیدهای آلی گروه فسفوریل فسفولیپیدها و به ویژه اسیدهای نوکلئیک لازم است (Marschner, 1995). از آنجایی که تاثیر کاربرد منیزیم به‌صورت پرایمینگ کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است در این پژوهش تأثیر پرایمینگ منیزیم بر جوانه‌زنی، رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پرولین در شرایط دماهای متفاوت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پرایمینگ منیزیم و دما بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و درصد جوانه‌زنی آزمایشی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه محقق اردبیلی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل سه سطح پرایمینگ منیزیم (شاهد، ۵، ۱۰ میلی‌مولار) و دماهای مختلف جوانه‌زنی (۱۵، ۲۵، ۳۵ درجه سانتی‌گراد) بود. بذرهای کنجد پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ به‌مدت ۵ دقیقه و اتانول ۷۰٪ به‌مدت یک دقیقه، درون محلول‌هایی با غلظت‌های (۰، ۵، ۱۰ میلی‌مولار) کلرید منیزیم به‌مدت ٤٨ ساعت خیسانده شد و برای شاهد از آب استفاده شد. سپس بذور به‌مدت یک روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا خشک گردد. در ادامه بذور پرایم شده به‌روش TP[1] درون پتری‌دیش‌های ١٤ سانتی‌متری کشت شده و به ژرمیناتورهای دارای دماهای ۱۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. دوره رشد ۱۰ روز بود و شمارش تعداد بذرهای جوانه‌زده بر اساس خروج جوانه دو میلی‌متری به‌صورت روزانه به‌طور مرتب تا روز دهم با توجه به توصیه‌های (ISTA, 2010) ادامه پیدا کرد.

سرعت جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Scott et al., 1984).

$$\overline{D} = \sum_{t=1}^{t=10} \frac{n}{t}$$

$\overline{D}$ سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز و t تعداد روزها پس از قرار دادن بذرها در پتری‌دیش می‌باشد. درصد جوانه‌زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد: GP=100. (NG/NT)

G_P: درصد جوانه‌زنی، N_G: تعداد بذرهای جوانه زده و N_T تعداد کل بذرها می‌باشد. در پایان دوره جوانه‌زنی (۱۰ روز) طول و وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک گیاهچه، نمونه‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در آون با دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و با استفاده از ترازوی دقیق (۰/۰۰۰۱ گرم) وزن خشک گیاهچه‌ها به‌دست آمد (ISTA, 2010). تغییرات بیوشیمیایی گیاهچه‌ها بعد از ۱۰ روز اندازه‌گیری شد.

برای سنجش پروتئین کل ابتدا ۰/۲ گرم نمونه‌تر برگی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۰/٦ میلی‌لیتر بافر استخراج همگن گردید. مخلوط حاصل درون لوله پلاستیکی[2] داخل یخ قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و روشناور[3] درون لوله‌های جدید به‌مدت ۲۰ دقیقه در٤۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. از روشناور حاصل برای اندازه‌گیری پروتئین کل استفاده شد (Bradford, 1976).

برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا ۰/۵ گرم نمونه‌تر برگی در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع پودر شد و با ۳ میلی‌لیتر بافر تریس- کلریدریک ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ هموژن گردید. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد (Sudhakar et al., 2001) و روشناور برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز مورد استفاده قرار گرفت (Kar and Mishra, 1976).

1- Top paper
2- Micro tube
3- Ssupernatant

از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. به این صورت که مقدار۰/۱ گرم بافت برگی به همراه دو میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳/۳ درصد سائیده شده و با سرعت۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. جذب در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج پژوهش نشان داد که اثر اصلی دما بر آزمون جوانه‌زنی استاندارد معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی نیز نشان داد که با افزایش دما از درصد جوانه‌زنی بذور کنجد کاسته شد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (۳٤/۹۱٪) در دمای ۱۵ درجه مشاهده شد و کمترین درصد جوانه‌زنی (۲٤/۳۵٪) نیز مربوط به دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۱). دما عاملی است که علاوه بر درصد جوانه‌زنی بر سرعت جوانه‌زنی نیز تاثیر می‌گذارد (Garcia-Huidobro et al., 1982; Kebrab and Murdoch, 1999). همان‌طور که بررسی شکل ۱ نشان می‌دهد تاثیر افزایش دما بر درصد جوانه زنی منفی بوده و موجب کاهش آن شده است. دمای بالا بر ساختار میکروتوبول‌ها از طریق تجزیه آنها و یا طویل شدن آنها تاثیر می‌گذارد. همچنین صدمات ناشی از دمای بالا موجب مواجه شدن گیاه با گرسنگی، بازدارندگی رشد، کاهش غلظت یونی، تولید ترکیبات سمی و انواع اکسیژن واکنش پذیر (ROS[1]) می‌گردد (Schoffl et al., 1999; Howarth, 2005). سیگنال تولید شده در اثر ROS منجر به تولید آبسیزیک اسید (ABA) می‌گردد کهیکی از هورمون‌های تنش می‌باشد. ABA نیز که در تنظیم بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی نقش دارد به‌عنوان سیگنال عمل می‌کند. تنش‌های مختلف محیطی از جمله درجه حرارت بالا، موجب افزایش سطوح ABA می‌شوند (Turkan, 2011). از آنجایی که این هورمون از جوانه‌زنی بذور جلوگیری می‌کند ممکن است یکی از دلایل کاهش درصد جوانه‌زنی بذور کنجد در این پژوهش باشد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش درصد جوانه‌زنی با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین رابطه رگرسیونی منفی و معنی‌داری داشت (شکل ۵). همچنین همبستگی درصد جوانه‌زنی با آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و پرولین منفی بود و با سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت داشت (جدول ۲). گیاه برای افزیش سنتز پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که منجر به تحمل به تنش می‌شود باید هزینه‌ای را پرداخت کند که ممکن است کاهش درصد جوانه‌زنی به همین دلیل باشد.

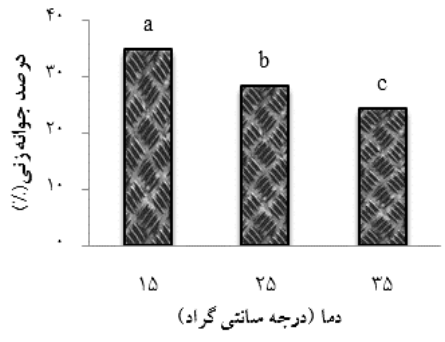
1- Reactive Oxygen Space

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس منیزیم و دما بر جوانه‌زنی و صفات فیزیولوژیک

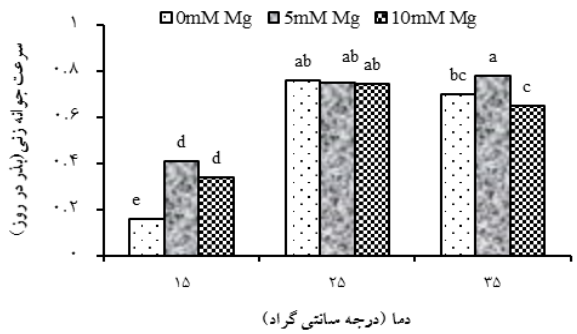
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات									
		پرولین	درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	سرعت جوانه‌زنی	وزن خشک گیاهچه	طول ریشه‌چه	پروتئین	کاتالاز	پراکسیداز	پلی‌فنل اکسیداز
منیزیم	۲	۰/۲۸**	۱۵/۳۵^{ns}	٦/٦٨**	۰/۰۲٦**	۰/۰۰۰۰۱۷**	۱۰/۵٦**	۲۹۷**	۱۳۷۹**	۸٦۳۵۱**	۳٤۸٦**
دما	۲	۱۰/۱۱۷**	۱٤۱/۹۳**	۱٦۲**	۰/۵۵**	۰/۰۰۰٤۵**	۹۹/۱۷**	۱۲۱٤**	۱۲۵۹۰**	۸۱۵۱٦**	۹٦۱٤**
منیزیم × دما	٤	۰/۰۸**	۲۷/٦۱^{ns}	٦/٤۱**	۰/۰۱۷**	۰/۰۰۰۰٦۳*	۳/۵۹*	۳۵*	۱۸٦**	۲٤۲۰۰**	٦۹/۸**
خطا	۱۸	۰/۰۱٦	۱۰/۵	۰/٤۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۱۹	۰/۸۰۱	۱۱/۳۵	۱۰/۳۵	٦٦۹	۱٤
ضریب تغییرات (٪)	-	۸/۲۵	۳/۵۲	۱۳/۸۸	۷/۷۱	۱۲/۸۸	۲۰/۸۱	۷/۹۸	٤/٦	۱٦/۲۷	٤/٤۵

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

اثر متقابل دما و پرایمینگ منیزیم بر سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار شد (جدول۱). افزایش غلظت منیزیم در محلول پرایمینگو دما، سرعت جوانه‌زنی را افزایش داد. اما در دمای ۲۵ درجه نسبت به دماهای ۱۵ و ۳۵ درجه بیشترین سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد. با توجه به مقایسه میانگین اثرات متقابل، بیشترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۷۸ بذر در روز) مربوط به دمای ۲۵ درجه و ۱۰ میلی‌مولار منیزیم بود. کمترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۱٦ بذر در روز) نیز تحت تاثیر دمای ۲۵ درجه و پرایمینگ ۱۰ میلی‌مولار منیزیم مشاهده شد (شکل۲). افزایش سرعت جوانه‌زنی در پژوهش‌های مختلف از جمله کاربرد عناصری مانند فسفر و روی (AbdolRahmani et al., 2009)، سولفات روی و اوره (Latifzadeh et al., 2013)، نیترات پتاسیم (Ramezani and Rezaie Sookht abandani, 2011) در تنش‌های مختلف مشاهده شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. سرعت جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌داری با درصد جوانه‌زنی، وزن خشک و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه داشت (جدول ۲). همچنین رابطه رگرسیونی سرعت جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه منفی بود (شکل ۵). افزایش سرعت جوانه‌زنی از طریق مصرف سریع منابع غذایی و تبدیل آن به ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌تواند موجب کاهش کوتاه‌مدت وزن خشک شده اما در طولانی‌مدت به دلیل استقرار سریع گیاهچه، بسته شدن سریع کانوپی و فتوسنتز بیشتر جبران می‌گردد. به نظر می‌رسد که افزایش سرعت جوانه‌زنی در اثر پرایمنگ بتواند منجر به بهبود جوانه‌زنی و استقرار سریع بذور کنجد در شرایط نامساعد دمایی گردد.

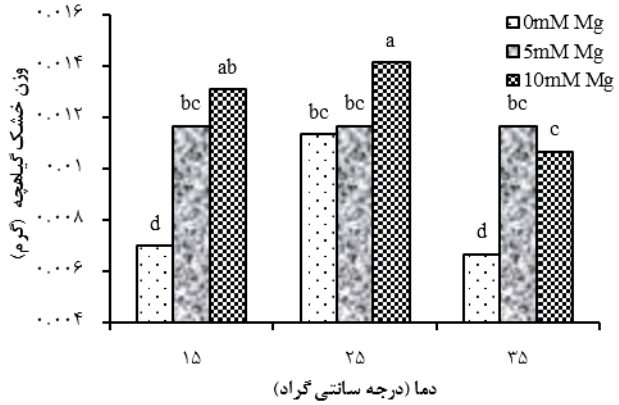


شکل ۱- تغییرات درصد میانگین جوانه‌زنی کنجد در دماهای مختلف شکل



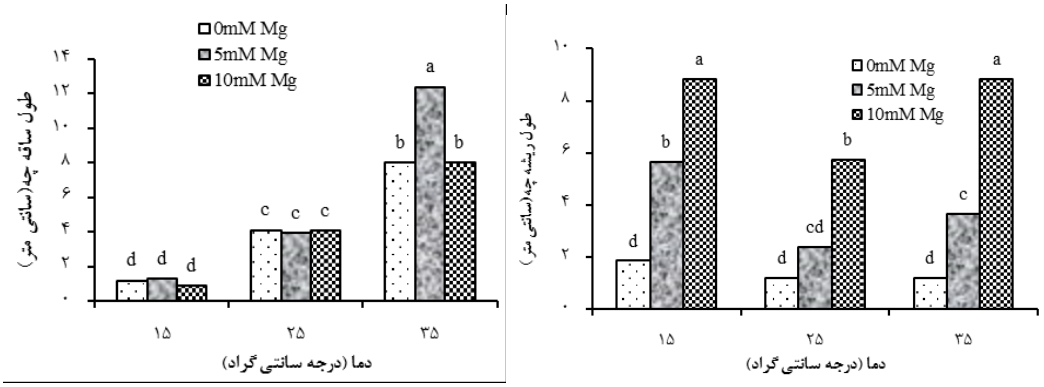
شکل ۲- تاثیر پیش‌تیمار بذر با منیزیم بر میانگین سرعت جوانه‌زنی در شرایط دماهای متفاوت

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل دما و پرایمینگ بر میزان وزن خشک گیاهچه‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱). در تیمار بدون پرایمینگ و دماهای ۱۵ و ۳۵ درجه کمترین وزن خشک مشاهده شد اما کاربرد منیزیم منجر به افزایش وزن خشک در این دماها گردید. بیشترین وزن خشک گیاهچه (۱٤ میلی‌گرم) از پیش‌تیمار با ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در دمای ۲۵ درجه به‌دست آمد و کمترین وزن خشک (٦/٦ میلی‌گرم) نیز در عدم پیش‌تیمار و دمای ۳۵ درجه مشاهده شد (شکل ۳). افزایش تولید ماده خشک به‌وسیله پیش‌تیمار با منیزیم، ممکن است به‌دلیل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه باشد. منیزیم در ساختن RNA و پروتئین نقش مهمی دارد. در نتیجه در اثر کمبود این عنصر پروتئین‌سازی متوقف شده، نشاسته در برگ تجمع یافته و وزن خشک برگ افزایش می‌یابد (Marschner, 1995). وجود همبستگی مثبت بین وزن خشک گیاهچه با پروتئین، سرعت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نشان‌دهنده تاثیر مثبت افزایش پروتئین و شاخص‌های جوانه‌زنی بر وزن خشک گیاهچه می‌باشد.

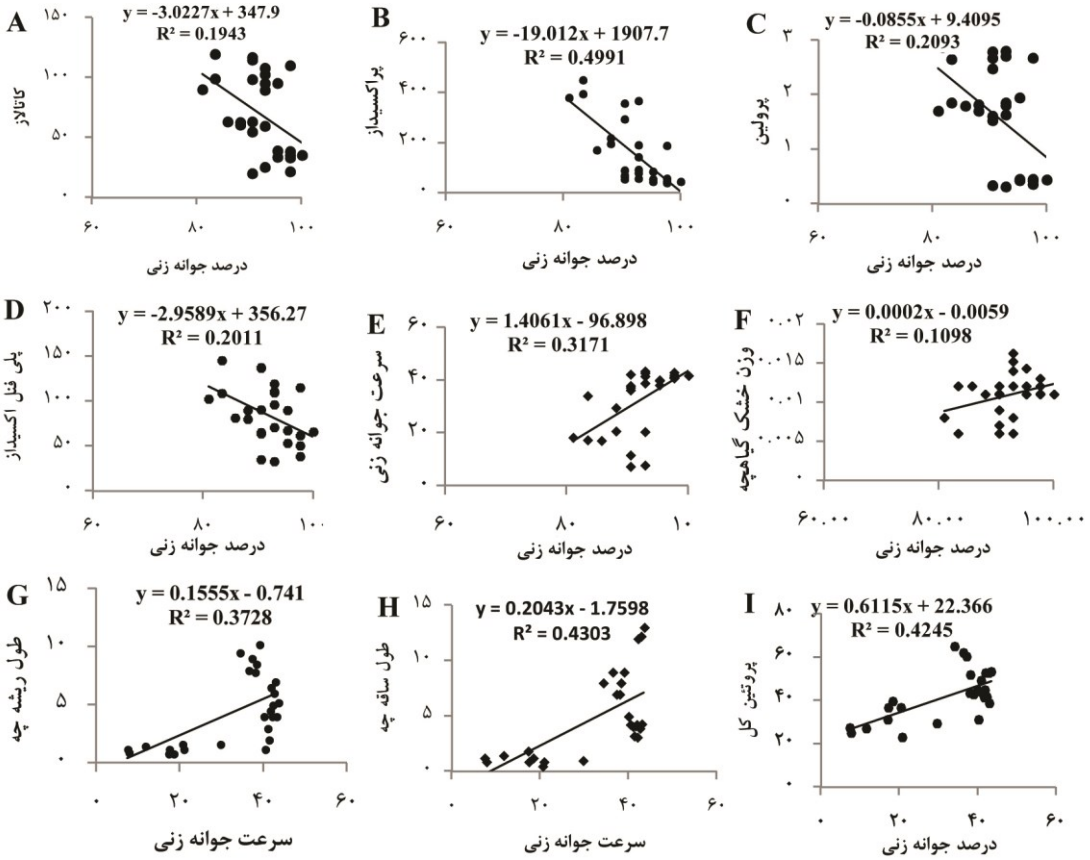


شکل ۳- تاثیر پرایمینگ کلرید منیزیم و دما بر میانگین وزن خشک گیاهچه.

طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه: طول ساقه‌چه و ریشه‌چه تحت تاثیر اثرات متقابل غلظت‌های مختلف منیزیم و دما قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد با افزایش دما و غلظت پرایمینگبا منیزیم، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه افزایش یافت. به‌طوری‌که بیشترین طول ریشه‌چه (۸/۸۳ سانتی‌متر) با پرایمینگ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در دماهای ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. همچنین بیشترین (۱۲/۱٤) طول ساقه‌چه در دمای ۲۵ درجه و کاربرد ۱۰ میلی‌مولار قابل مشاهده بود. در تیمار صفر پرایمینگ (شاهد) کمترین میزان طول ریشه‌چه و ساقه‌چه مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری بین دماهای مختلف در این سطح از پرایمینگ (شاهد) وجود نداشت (شکل ٤). همچنین همبستگی طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (جدول ۲) مثبت و معنی‌دار بود.که نشان می‌دهد افزایش یکی بر دیگر تاثیر مثبت گذاشته و منجر به افزایش آنها می‌شود. (Maheshbabu et al., 2008) گزارش کردند که کاربرد کودهای نیتروژن، فسفر و پتاسیم باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای کیفیت بذر شامل درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و کاهش هدایت الکتریکی بذور سویا می‌شود.از آنجایی که منیزیم کلات‌هایی با ADP و ATP و اسیدهای آلی تشکیل می‌دهد، برای واکنش‌های آنزیمی ضروری می‌باشد و برای فسفریلاسیون واکنش‌های ساخت و ساز فتوسنتزی و فسفریلاسیون اکسیدی در تنفس مورد نیاز است (Gardner et al., 1999). بنابراین به رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه کمک کرده و منجر به افزایش وزن خشک گیاهچه می‌شود.



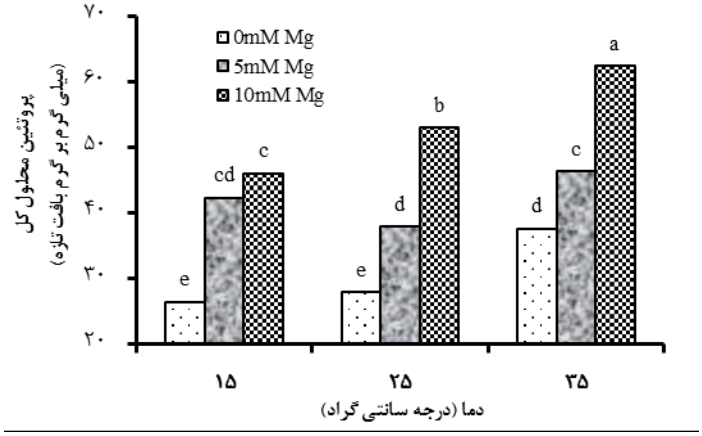
شکل ٤- (A): تاثیر پیش‌تیمار بذر با منیزیم بر طول ریشه‌چه در شرایط دماهای متفاوت شکل (B): اثر پرایمینگ منیزیم بر طول ساقه‌چه در دماهای مختلف



شکل ٥- رابطه رگرسیونی درصد جوانه زنی با کاتالاز (A)، پراکسیداز (B)، پرولین (C) پلی فنل اکسیداز (D) و سرعت چوانه زنی (E) و رابطه رگرسیونی سرعت جوانه زنی با وزن خشک گیاهچه (F)، طول ریشه‌چه (G) طول ساقه‌چه (H) و پروتئین کل (I).

اثر متقابل منیزیم و دما بر میزان پروتئین کل تاثیر معنی‌داری داشت (جدول ١). بذوری که در غلظت ١٠ میلی‌مولار پرایمینگ منیزیم قرار داشتند، بیشترین میزان پروتئین را نشان دادند. کم‌ترین مقدار پروتئین نیز در دمای ١٥ درجه و بدون پرایم بدست آمد (شکل ٦). در هر سه غلظت منیزیم، کم‌ترین میزان پروتئین مربوط به تیمار شاهد پرایمینگ بود که نشان‌دهنده تاثیر مثبت پرایمینگ بر روی میزان پروتئین بذور کنجد است. متابولیسم نیتروژن و پروتئین‌سازی وابسته

به حضور منیزیم می‌باشد (Gardner et al., 1999).پژوهش‌های (Zavarian et al., 2013) افزایش میزان پروتئین گیاهچه مارتیغال در اثر اعمال پرایمینگ را نشان داد.پرایمینگبذر ممکن است موجب افزایش محتوای آنزیمی بذر نیزشده باشد. به عبارت دیگر، به نظر می‌رسد که میزان آنزیم‌های تولید شده به روش سنتز از نو[1] بر اثر پرایمینگ افزایش بیشتری پیدا کرده است. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که منیزیم از طریق افزایش ریبوزوم‌ها، افزایش نسخه‌برداری و ترجمه، همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده RNA و پروتئین ممکن است محتوای پروتئینی را افزایش دهد. یکی از مکانیسم‌های تحمل گرما، القای پروتئین های شوک حرارتی (HSPs) می‌باشد HSP.ها نقش مهمی در هدایت سیگنال تنش و فعالیت ژن (Nollen and Morimoto, 2002) و تنظیم اکسیداسیون سلولی (Arrigo, 1998) بر عهده دارند. آنها همچنین با دیگر مکانیسم های واکنش به تنش از قبیل تولید اسمولیت‌ها (Diamant et al., 2001) و آنتی‌اکسیدان‌ها (Panchuk et al., 2002) اثر متقابل دارند. بنابراین با توجه به نتایج پژوهش افزایش پروتئین شوک حرارتی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ممکن است اثر تنش دمای بالا را خنثی کرده و موجب افزایش وزن خشک گردد.



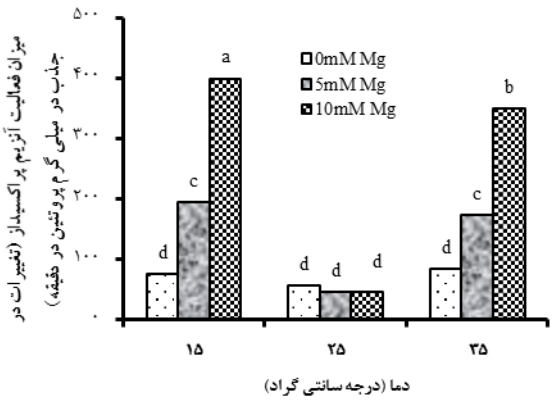
شکل ٦- تاثیر دما و پرایمینگ بر میانگین پروتئین کل

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر متقابل دما و منیزیم از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی‌داری نشان داد. معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارهای آزمایشی را می‌توان به متفاوت بودن واکنش منیزیم در دماهای مختلف نسبت داد. همان‌گونه که شکل ۷ نشان می‌دهد منیزیم موجب افزایش فعالیت کاتالاز در همه دماهای مورد بررسی شد. اما در تیمار عدم پرایمینگ و دمای ۲۵ درجه کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۲۲/٤٤) مشاهده شد. در حالی‌که بیشترین میزان فعالیت آن (۱۱٦/۹۲) در اثر کاربرد ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در دمای ۳۵ درجه قابل مشاهده بود (شکل ۵). در طی تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و پلی‌فنل اکسیداز افزایش می‌یابد و این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی منجر به تجزیه انواع اکسیژن فعال می‌شوند بنابراین توانایی تحمل انواع تنش‌های محیطی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان رابطه مستقیم دارد (Mittler, 2002). آنزیم کاتالاز یکی از مهمترین آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی است که با افزایش شدت تنش افزایش می‌یابد، ولی با استفاده از تکنیک پرایمینگ بذرها می‌توان میزان فعالیت این آنزیم را در گیاهان تحت تنش بیشتر کرد (Moosavi et al., 2009). نتایج این پژوهش نشان داد که در دماهای معمولی فعالیت آنزیم کاتالاز در حداقل بوده و افزایش تنش موجب افزایش آن می‌گردد.

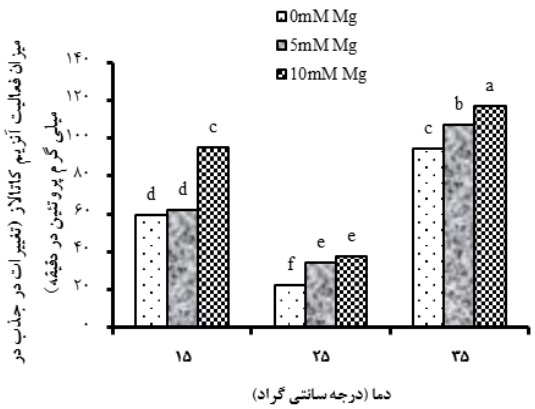
1- *de novo*

همچنین کاربرد منیزیم به‌عنوان پیش‌تیمار توانست فعالیت آن را بیشتر افزایش دهد. گیاهچه‌های پرایم شده حاصل از بذرهای Cucomin melon در مقایسه با گیاهچه‌های رشد یافته از بذرهای پرایم نشده، فعالیت کاتالاز بیشتری را نشان دادند (Farhoudi et al., 2011). نتایج حاصل از همبستگی آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان‌دهنده همبستگی مثبت و معنی‌دار کاتالاز با پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز، پرولین، پروتئین و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه بود درحالی که درصد جوانه‌زنی با آنزیم های آنتی‌اکسیدان همبستگی و رگرسیون منفی و معنی‌دار داشت (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل منیزیم و دما بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل تیمارهای آزمایشی نشان داد که دمای ۲۵ درجه از میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کاست و دمای ۱۵ و ۳۵ درجه نسبت به دمای ۲۵ درجه فعالیت بیشتری از پراکسیداز را نشان دادند. همچنین کاربرد ۱۰ میلی‌مولار منیزیم نسبت به شاهد، منجر به افزایش فعالیت پراکسیداز شد و این برتری فعالیت نه تنها نسبت به شاهد بلکه نسبت به تیمار ۵ می‌مولار منیزیم نیز بود (شکل ۸). منیزیم یک بخش ضروری از مولکول کلروفیل بوده و در تعدادی از آنزیم‌ها، مانند ترانس فسفوریلاز، دهیدروژناز و کربوکسیلاز به‌عنوان کوفاکتور عمل می‌کند. همچنین منیزیم به ایجاد قندها، روغن‌ها، چربی‌ها و زنجیره‌های پلی‌پپتیدی از اسیدهای آمینه کمک می‌کند (Tisdale et al., 1985). بنابراین این عنصر از تجزیه مولکول‌های ضروری جلوگیری کرده و حتی به سنتز آنها کمک می‌کند. از آنجایی که تجزیه پروتئین و غشاهای سلولی موجب مرگ سلولی می‌گردد می‌توان نتیجه گرفت که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در اثر افزایش غلظت منیزیم منجر به حفاظت غشاها و پروتئین‌ها شده و در نتیجه مرگ سلول را به تاخیر می‌اندازد. پراکسیداز علاوه بر همبستگی مثبت با سایر آنزیم‌ها دارای همبستگی مثبت با پرولین، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و همبستگی منفی با درصد جوانه‌زنی بود (جدول ۲).



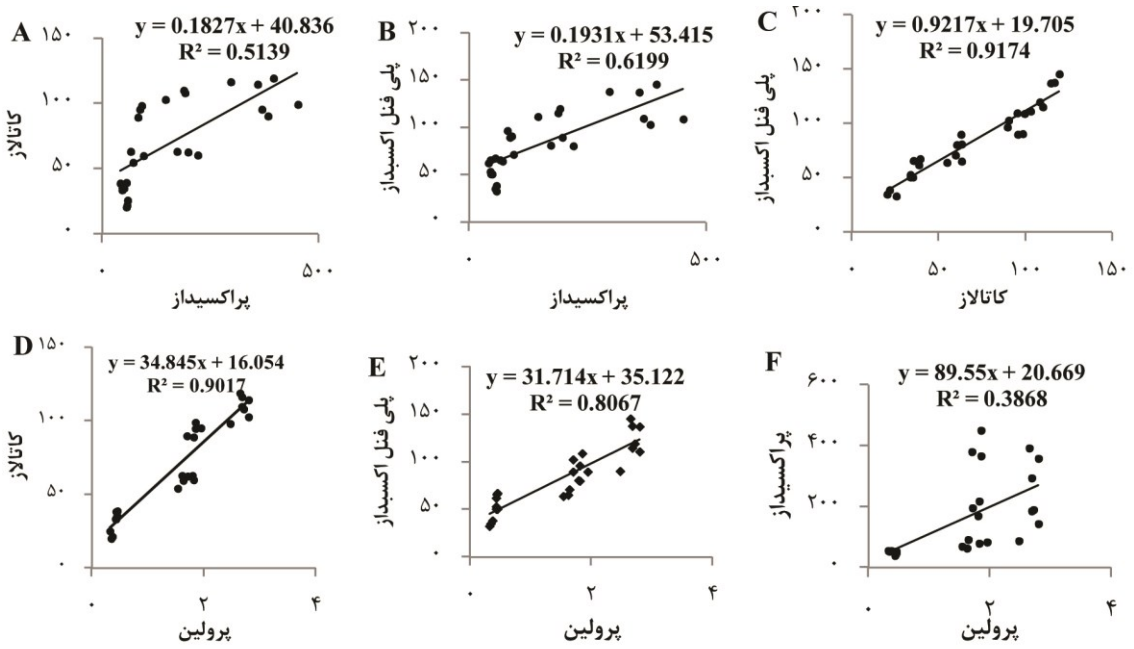
شکل ۷- تاثیر منیزیم و دما بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز



شکل ۸- تاثیر منیزیم و دما بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

افزایش میزان منیزیم در همه دماهای مورد بررسی موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد. اما در دمای ۲۵ درجه همانند آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز کمتر بود. از آنجایی که در شرایط محیطی مناسب گیاه نیازی به استفاده از مکانیزم‌های دفاعی ندارد (Turkan, 2011).فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش یافته است. اما در دماهای بالا و پایین (۱۵ و ۳۵ درجه) فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز افزایش یافت (شکل ۱۰). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیباتی با وزن مولکولی پایین این توانایی را دارد که بدون آن‌که

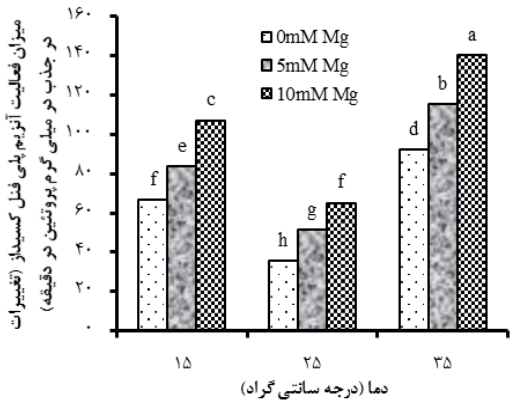
خود مورد تغییر قرار گرفته و به مواد مخرب رادیکال تبدیل شود، ROS را مهار کند (Mittler et al., 2004). دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر تنش و متاثر از پرایمینگ، می‌تواند در اثر ساخت DNA جدید در جنین در مدت پرایمینگ و در غیاب سلول‌های تقسیم شونده بوده که به‌دنبال آن افزایش سرعت سنتز DNA در بافت جنین اتفاق می‌افتد. افزایش سنتز پروتئین و DNA در بذرهای پرایم شده تنها بعد از ٦ تا ١٢ ساعت پس از اعمال پرایمینگ گزارش شده است (Bray et al., 1989). رگرسیون آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز با یکدیگر و با پرولین مثبت و معنی‌دار بود که نشان می‌دهد که افزایش پرولین منجر به محافظت از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز تاثیر مثبتی بر سنتز پرولین دارد.



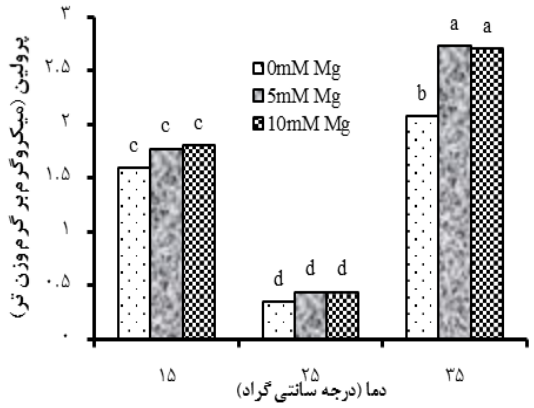
شکل ۹- رابطه بین آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز (A)، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز (B)، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز (C)، پرولین و کاتالاز(D)، پرولین و پلی‌فنل اکسیداز(E) پرولین و پراکسیداز (F).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل پیش‌تیمار و دما بر میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۱). افزایش دما و کاربرد منیزیم موجب افزایش پرولین شد. به‌طوری‌که بیشترین میزان این اسمولیت در اثر کاربرد ۱۰ میلی‌مولار منیزیم در دمای ۲۵ و ۳۵ درجه مشاهده شد. در حالی‌که کمترین پرولین به دمای ۳۵ درجه و پرایمینگ ۵ میلی‌مولار و صفر (شاهد) تعلق داشت (شکل۱۱). افزایش تجمع پرولین در طی تنش، نقش چندگانه محافظتی داشته و یک بررسی طولانی مدت در مورد پرولین نشان داده است پرولین یک اسمولیت خنثی بوده که ساختارهای سلولی را محافظت کرده و منجر به پایداری آنزیم‌ها می‌شود (KaviKishor et al., 2005). زمانی که گیاه تحت تنش قرار می‌گیرد، مقدار پرولین افزایش پیدا می‌کند. همچنین با توجه به نتایج این پژوهش، میزان پرولین در گیاهچه‌های پرایم شده تحت دماهای بالا و پایین، نسبت به گیاهچه‌های حاصل از بذرهای پرایم نشده، افزایش معنی‌داری را نشان داد. زمانی که غلظت پرولین معنی‌دار است، به‌عنوان یک محافظت‌کننده آنزیم‌های سیتوسول و ساختار غشاء محسوب می‌شود. پرولین می‌تواند در برگ‌ها بارگیری شود و به بافت‌های مریستمی جهت شرکت در تنظیم اسمزی انتقال یابند. افزایش

پرولین ناشی از افزایش تغییرات دمایی را می‌توان چنین توجیه کرد که آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش، فعال شده و سنتز پرولین افزایش می‌یابد، زیرا این تغییرات منجر به تولید سیگنال‌هایی می‌شود که موجب تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها می‌شود. نتایج (Ashrafi and Razmjou, 2010) نیز نشان داد که میزان پرولین در قسمت‌های رویشی گلرنگ در بذور هیدروپرایم شده تحت شرایط تنش و غیرتنش، افزایش یافت و بیشترین میزان پرولین در بذور هیدروپرایم شده مشاهده شد. بنابراین افزایش تجمع پرولین در گیاهان تیمار شده باعث رشد بهتر این گیاهان می‌گردد. احتمالاً تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در طی چرخه نمو گیاه باعث این تغییرات شده است. پرولین علاوه بر محافظت ماکرومولکول‌هایی مانند پروتئین و غشاهای سلولی قادر است از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حفاظت کرده و موجب بهبود فعالیت آنها گردد (Turkan, 2011).



شکل ۱۰- تاثیر منیزیم و دما بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز



شکل ۱۱- تغییرات پرولین در اثر دما و منیزیم

جدول ۲- همبستگی صفات فیزیولوژیک

	پروتئین	کاتالاز	پرکسیداز	پلی فنل اکسیداز	پرولین	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن خشک
پروتئین	۱									
کاتالاز	۰/۵۰۰ **	۱								
پراکسیداز	۰/۲۶۲	۰/۷۱۷**	۱							
پلی فنل اکسیداز	۰/۵۴۸**	۰/۹۵۸**	۰/۷۸۷**	۱						
پرولین	۰/۳۶۵	۰/۹۵۰**	۰/۶۲۲**	۰/۸۹۸**	۱					
درصد جوانه زنی	۰/۱۲۹	-۰/۴۴۱*	-۰/۷۰۷**	-۰/۴۴۸*	-.۰/۴۵۷*	۱				
سرعت جوانه زنی	۰/۶۵۲**	-۰/۱۰۸	-۰/۳۱۵	-۰/۰۷۰	-۰/۱۹۴	۰/۵۶۳**	۱			
طول ساقه‌چه	۰/۷۶۸**	۰/۵۱۸**	-۰/۰۱۴	۰/۴۷۲*	۰/۴۹۷**	۰/۲۵۰	۰/۶۵۶**	۱		
طول ریشه چه	۰/۷۸۰**	۰/۴۲۱*	۰/۰۲۸	۰/۳۸۴*	۰/۳۵۷	۰/۱۰۷	۰/۶۱۱**	۰/۷۵۰**	۱	
وزن خشک	۰/۴۵۵*	-۰/۰۰۱	-۰/۳۷۲	-۰/۰۰۱	۰/۰۲۴	۰/۳۳۱	۰/۷۴۲**	۰/۶۹۴**	۰/۵۳۷**	۱

* و ** : به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج به‌دست آمده به نظر می‌رسد دمای ۲۵ درجه مناسب‌ترین دما برای جوانه‌زنی کنجد باشد اما در این دما فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش نشان می‌دهد. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها نشان‌دهنده عدم وجود تنش در دمای ۲۵ درجه است. کاربرد منیزیم نیز توانست اکثر صفات مفید اندازه‌گیری شده را افزایش دهد. با توجه به نقش منیزیم به‌عنوان یکی از عناصر مهم در فعال‌سازی آنزیم‌ها به نظر می‌رسد کاربرد این عنصر بتواند موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شده و در دماهای بالاتر و پایین‌تر از دمای مطلوب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را فعال کرده و موجب بهبود استقرار گیاهچه گردد.

References

Abdolrahmani, B., Ghasemi Gholozani, K., ValiZadeh, M., FeiziAsl, V. and Tavakoli, A. 2009. Effects of seed priming on seed vigor and grain yield of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Abidar) in rainfed conditions. Iranian Journal of Crop Plant Science. 11(4):337-352

Arrigo, A.P. 1998. Small stress proteins: chaperones that act as regulators of intracellular redox state and programmed cell death. Biological Chemistry, 379: 19–26.

Ashrafi, A. and Razmjou, Kh. 2010. Evaluation of hydropriming effect onsafflower physiological and biochemical characteristics under drought stress. Journal of Crop Ecophysiology, 1(1): 34-44.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant soil, 39: 205-208.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Biochemistry 72:248-254.

Bray, C.M., Davision, P.A., Ashraf, M. and Taylor, R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seed. Annal Botany, 63:185-193.

Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 1995. Principles of Seed Science and Technology. Pub. Chapman and Hall. USA. 488p.

De Villiers, A.J., Van Rooyrn, M.W., Theron, G.K. and Van Deventer, H.A. 1994. Germination of three namaqual and pioneer species, as influenced by salinity, temperature and light. Seed Science and Technology. 22: 427-433.

Demir Kaya, M., Okçu, G., Atak, M., Çikili, Y. and Kolsarici, Ö. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal ofAgronomy. 24: 291-295.

Diamant, S., Eliahu, N., Rosenthal, D. and Goloubinoff, P. 2001. Chemical chaperones regulate molecular chaperones in vitro and in cells under combined salt and heat stresses. Journal of Biological Chemistry. 276, 39586–39591.

Farhoudi, R., Saeedipour, S. and 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 Agricultural Research 6: 1363-1370.

Follett, RH., Murphy, L.S. and Donahue, R.L. 1981. Fertilizers and Soil Amendments. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Farooq, M., Barsa, A., Rehman, H. and Saleem, B.A. 2008. Seed priming enhances the performance of late sown wheat (*Triticum aestivum* L.) by improving chilling tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science. 194: 55–60.

Garcia-Huidobro, J., Monteith, J.L. and Squier, G.R. 1982. Time, temperature and germination of Pearl Millet (*Pennisetum typhoides*, S & H). Journal of Experimental Botany. 33:288-296.

Gardner, P., Brent Pearce, R. and Mitchell, R.L. 1999. Physiology of crop plants. Jahad Mashhad University Press.

George, L., Bapat, V.A. and Rao, P.S. 1987. *In vitro* multiplication of sesame (*Sesamum indicum* L.) through tissue culture. Annals of Botany 60: 17-21.

Howarth, C.J. 2005. Genetic improvements of tolerance to high temperature. In: Ashraf, M., Harris, P.J.C. (Eds.), Abiotic Stresses: Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches. Howarth Press Inc., New York.

Hus, J.L. and Sung, J.M. 1997. Antioxidant role of glutatnione associated with accelerated again and hydration of triploid Warermelon seeds. Physiologa Plantarum, 100: 967-974.

International rules for seed testing. 2010. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.

Jordan, G.L. and Haferkamp, M.R. 1989. Temperature responses and calculated heat units for germination o f several range grasses and shrubs. Journal of Range Management, 42:41-45.

Kar, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 578:315-319.

KaviKishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K. et al 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science, 88(3): 424-438.

Kebrab, E. and Murdoch, A.J. 1999. A model of effects of a wider range of constant and alternating temperatures on seed germination of four Orobanches species. Annals of Botany, 84: 549-557.

Kocabas, Z., Craigon, J. and Azam-Ali, S.N. 1999. The germination response of Bambara groundnut (*Vigna sublerrannean* L.) Verdo) to temperature. Seed Science and Technology, 27:303-313.

Ltizadeh, M., Aboutalebian, M.A., Zavare, M. and Rabie, M. 2013. Effect of seed priming on germination characteristics of the field and planting dates on yield and yield components of bean landraces. Iranian Journal of Field Crop Science, 44(1):23-33.

Maheshbabu, H.M., Hunje, R. Biradarpatil, N.K. and Babalad, H.B. 2008. Effect of organic manures on plant growth, seed yield and quality of soybean. Karnataka Journal of Agriculture Science. 21(2): 219-221.

Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd Ed., Academic Press, London.

Masoumi Zavarian, A., Yousefi Rad, M. and Sharifi Moghadasi, M. 2013. Effects of seed priming with potassium nitrate on the germination index, total proteins and peroxidase enzyme activity of medicinal plant seedlings Martyghal. First Virtual national Conference on Sustainable Agriculture and Natural Resources.

McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. Seed Science and Technology, 27: 177–237.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science, 7: 405-410.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science. 9(10):490-498.

Moosavi, A., Tavakkol-Afshari, R., Sharif-Zadeh, F. and Aynehband, A. 2009. Effect of seed priming on germination characteristics, polyphenol oxidase, and peroxidase activities of four amaranth cultivars. Journal of Food Agricultural Environmental 7: 353-358.

Nollen, E.A.A. and Morimoto, R.I. 2002. Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing 'heat shock' proteins. Journal of Cell Science 115:2809–2816.

Panchuk, I.I., Volkov, R.A. and Sch¨offl, F. 2002. Heat stress- and heat shock transcription factor-dependent expression and activity of ascorbate peroxidase in *Arabidopsis*. Plant Physiology 129, 838–853.

Rahimian Mashhadi, H., Bagheri, A. and Paryab, A. 1991. Effect of polyethylene glycol and different potential NaCl temperature on germination of dry land wheat. Journal of Agricultural Science and Technology 5(1) 37-46

Ramezani, M. and Rezaie Sookht Abandani, R. 2012. Comparison of different time and priming concentration on the seedling characteristics of winter rape seed sarigol. Journal of Agriculture and Plant Breeding. 8(1): 145-159

Schoffl, F., Prandl, R. and Reindl, A. 1999. Molecular responses to heat stress. In: Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. (Eds.), Molecular Responses to Cold, Drought, Heat and Salt Stress in Higher Plants. R.G. Landes Co., Austin, Texas, pp. 81–98.

Scott, S.J., Jones, R.A. and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. Crop Science 24: 1192-1199.

Shashidhara, N., Ravikumar, H., Ashoka, N., Santosh, D.T., Pawar, P., Lokesha, R. and Janagoudar, B.S. 2011. Callus induction and Sub-culturing in sesame. International Journal of Agricultural Environmental and Biogeochemistry 4(3):153-156.

Soltani, A., Gholipoor, M. and Zeinali, E. 2006. Seed reserve utilization and seedling of wheat asaffected by drought and salinity. Environmental Experiment Botany 55: 195-200

Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara –Kumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*mours alba* L.) under NaCl salinity, Plant Science 167: 613-619.

Tisdale, S.L., Nelson, W.L. and Beaton, J.D. 1985. Soil Fertility and Fertilizers. 4th Ed., Macmillan Pub. Co., New York.

Turkan, I. 2011. Plant responses to drought and salinity stress, Development in a post-Genomic era. Advances in Botanical Research. 593p.

Varier, A., Vari, A.K. and Dadlani, M. 2010. The sub cellular basis of seed priming. Current Science, 99: 450-456.