

اثر پیش تیمار سدیم نیتروپروساید بر روی بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذور سویا (*Glycine max (L.) Merrill*) رقم ویلیامز تحت تأثیر پیری تسریع شده

هانیه سعادت^۱، محمد صدقی^{۲*}

گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰)

چکیده

به منظور بررسی اثر پیش تیمار سدیم نیتروپروساید در بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذور سویا رقم ویلیامز تحت تأثیر پیری تسریع شده آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۱ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پیری تسریع شده در سه سطح (صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و سدیم نیتروپروساید در سه سطح (شاهد، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی پی ام) بود. نتایج نشان داد که فرسودگی شاخص‌های رشد شامل درصد جوانه زنی، ضریب آلومتری، طول ریشه چه، طول ساقه چه و طول گیاهچه، وزن تر ریشه چه و ساقه چه، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه، شاخص طولی و وزنی بینه بذر را کاهش داد، ولی پیش تیمار بذر با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید به ویژه سطح ۲۰۰ پی پی ام این صفات را بهبود بخشید. پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید مقدار مالون دی آلدئید را کاهش داد، به طوری که بیشترین مقدار مالون دی آلدئید (۱۰/۳۶ میکرومول بر گرم) در تیمار شاهد دیده شد. فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز با پیش تیمار سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام ۲۵ درصد افزایش نشان داد. میزان فعالیت آنزیم لپاز و محتوای پروتئین با پیش تیمار سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام و بدون فرسودگی به ترتیب در حدود ۶۳ و ۶۶ درصد افزایش داشت. نتایج نشان داد تیمار بذر با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام مؤثرترین روش برای بهبود شاخص‌های رشد بذر سویا محسوب می‌شود و با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند اثرات مضر فرسودگی بر برخی صفات در گیاهچه سویا را کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: پرایمینگ، سدیم نیتروپروساید، شاخص‌های رشد، صفات بیوشیمیایی، فرسودگی

مقدمه

(2021). فرسودگی بذر فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال را افزایش می‌دهد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نقش مهمی در مقابل افزایش رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش‌های اکسیداتیو دارند. از تغییرات مهم در طول فرسودگی می‌توان به تولید رادیکال‌های آزاد، دهیدروژناسیون آنزیمی و اکسیداسیون آلدئیدی پروتئین‌ها، کاهش نفوذپذیری غشا و فعالیت آنزیم‌ها

سویا با نام علمی *Glycine max (L.)* جایگاه مهمی در بین محصولات صنعتی دارد و یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی در جهان است. در حال حاضر ۵۵ درصد روغن دنیا توسط سویا تأمین می‌شود (Lodhi and Diwan, 2018). فرسودگی در بذر سویا به راحتی در مزرعه و در انبار ایجاد می‌شود (Yu et al.,

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: m_sedghi@uma.ac.ir

اما پرایمینگ این صفات مذکور را تحت فرسودگی در گیاهان مختلف بهبود بخشید (اسدی اقبلاغی و رضوی، ۱۴۰۰؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۸؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹a؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹b؛ سعادت و صدقی، ۱۴۰۰؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۰).

هدف از این پژوهش، بررسی اثر پرایمینگ با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید بر روی بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذور سویا جهت کاهش اثرات فرسودگی و رادیکال‌های آزاد بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر پیش‌ تیمار سدیم نیتروپروساید بر روی بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذور سویا رقم ویلامز تحت تأثیر پیری تسریع‌شده آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه سطح پیری تسریع‌شده (صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت) و سه سطح سدیم نیتروپروساید (شاهد (آب مقطر)، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام) در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۱ انجام شد. طی آزمون پیری تسریع‌شده، بذرها در داخل آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 95 ± 2 درصد (مقداری آب مقطر (بدون یون) در داخل ظرف پلاستیکی ریخته و یک الک خشک طوری روی آن قرار داده شد که آب با صفحه مشبک آن تماس نداشته باشد. سپس بذرها درون کیسه توری به صورت یک لایه روی صفحه الک قرار داده شد تا به صورت یکنواخت آب جذب کنند. درصد رطوبت داخل آون با رطوبت‌سنج دیجیتال کنترل گردید. به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت قرار داده شدند. سپس بذرها فرسوده به همراه شاهد در درون محلول‌های پرایمینگ به مدت ۹ ساعت در دمای ۲۵ درجه قرار داده شدند. بعد از پرایمینگ، بذرها چندین بار توسط آب مقطر شستشو شدند، سپس، آزمون جوانه‌زنی استاندارد روی بذرها انجام شد. آزمون جوانه‌زنی به روش پتری‌دیش در سه تکرار ۲۵ بذری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۹ روز انجام گرفت (ISTA, 2012). در این روش، از

و تغییر در ساختمان مولکولی اسیدهای نوکلئیک اشاره کرد (Janmohammadi *et al.*, 2008). تکنیک پرایمینگ بذر یکی از روش‌های مؤثر برای کاهش و اصلاح خسارت ناشی از فرسودگی است و به فرآیند آبرسانی کنترل‌شده بذر و احیای متعاقب آن اشاره دارد که امکان بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی مربوط به مراحل اولیه جوانه‌زنی و ظهور ریشه‌چه را فراهم می‌کند (Paparella *et al.*, 2015; Becerra-). سدیم نیتروپروساید به عنوان یکی از اجزای مهم پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزیستی و زیستی نشان داده شده است (Khan *et al.*, 2012; Ahmad *et al.*, 2016). اکسید نیتریک (NO) مولکول سیگنال‌دهی چند وظیفه‌ای است و در فرآیندهای سازگاری با تنش گیاهان نقش دارد. NO در فرآیندهای رشد گیاه، از جمله جوانه‌زنی بذر، نمو گیاه، ترمیم غشای سلولی و غیره نقش اساسی دارد (Liu *et al.*, 2017;). مقدار زیاد NO می‌تواند با سوپراکسید ترکیب شده و رادیکال پراکسید نیتريت ONOO⁻ را تولید کند این رادیکال سبب تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Beligni and Lamattina, 1999). کاربرد سدیم نیتروپروساید باعث کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید و نشت الکترولیت تحت تنش می‌شود (Liu *et al.*, 2017; Yadu *et al.*, 2014)، در نتیجه، کاربرد سدیم نیتروپروساید می‌تواند یک راه مؤثر برای جلوگیری از آسیب اکسیداتیو گیاهان تحت تنش باشد (Mostofa *et al.*, 2015;). مطالعات نشان داده است که پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را در بذرها فرسوده کدو پوست کاغذی افزایش می‌دهد (روحی و همکاران، ۱۳۹۸) افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و میزان کل پروتئین محلول با استفاده از سدیم نیتروپروساید در بادام زمینی و سویا نیز گزارش شده است (Verma *et al.*, 2010; Aalam *et al.*, 2019). فرسودگی بذر به‌طور معنی‌داری طول گیاهچه، شاخص طولی و وزنی بنه گیاهچه، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و پروتئین کاهش می‌دهد،

نمونه گیاهی را در ۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیتته ۷/۵ حاوی سدیم کلرید ۱ نرمال پلی وینیل پیرولیدون و ۱ میلی مولار آسکوربات حل کرده سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بلافاصله ۰/۱ میلی مولار از عصاره آنزیمی در ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۵۰ میلی مولار تریس با اسیدیتته ۷/۶، ۵ میلی مولار منیزیم کلرید، ۰/۵ میلی مولار گلوکاتایون اکسید و ۰/۲ میلی مولار NADPH مخلوط کرده و در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش فعالیت آنزیم لپاز: سنجش فعالیت آنزیم لپاز براساس روش Huang و Redmann (۱۹۹۵) انجام گرفت. ابتدا نمونه‌ها سه بار با آب مقطر شستشو شدند، سپس در ۲۵ میلی لیتر محیط آسیاب به وسیله هاون خرد شد. محیط آسیاب شامل ساکارز به میزان ۰/۶ مول، EDTA به میزان ۱ میلی مولار، KCL به میزان ۱۰ میلی مولار، MgCl₂ به میزان ۱ میلی مولار، DTT به میزان ۲ میلی مول و بافر تریس با pH= ۷/۵ به میزان ۰/۱۵ مولار بود (ابتدا مواد براساس غلظت با واحد مولار و میلی مولار تهیه شد، سپس با آب به حجم معین رسانده شدند). هموژن حاصل بعد از عبور دادن از کاغذ صافی در دمای ۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰ دور سانتریفیوژ شد. روشناور حاصل بار دیگر در دمای ۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ و روشناور حاصل از آن به منظور تعیین فعالیت آنزیم لپاز مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت این آنزیم به روش رنگ‌سنجی انجام شد. عصاره آنزیم به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر با تری لینولئین ۵۰ میلی مولار به میزان ۱۰۰ میلی لیتر در بافر صمغ ااقایای ۵٪ مخلوط شد. سپس، بافر سنجش ۱۰۰ میلی مولار سوکسینات-هیدروکسید سدیم با pH= ۴/۷ و DTT ۵ میلی مولار به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه قرار داده شد. واکنش با حرارت ۱۰۰ درجه به مدت پنج دقیقه متوقف شد. سپس، به روش فلورومتري میزان فعالیت این آنزیم تعیین شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید (پراکسیداسیون لیپیدی): اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید براساس روش Heath

کاغذهای صافی واتمن استفاده شد. کف ظرف با استفاده از یک لایه کاغذ صافی پوشانده و ۲۵ عدد بذر روی کاغذ صافی که با آب مقطر خیسانده شده بود، قرار گرفت. پس از بستن درب، ظرف به داخل ژرمیناتور منتقل شد. در این مرحله از آزمون، شمارش بذرها یک روز پس از انتقال بذرها به محیط کشت آغاز شد و تا ثابت شدن جوانه‌زنی (۹ روز) پس از کاشت ادامه یافت. معیار جوانه‌زنی یک بذر، خروج ریشه‌چه به میزان ۲ میلی متر از پوسته بذر در نظر گرفته شد. سپس، شاخص‌های رشد و صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند.

درصد جوانه‌زنی: جهت تعیین درصد جوانه‌زنی در پایان دوره جوانه‌زنی (۹ روز) تعداد کل بذرهاى جوانه زده شمارش و یادداشت شد.

طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه: طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه (ریشه‌چه + ساقه‌چه) به وسیله خط‌کش مدرج بر حسب سانتی متر و با دقت میلی متر اندازه‌گیری شد.

وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه: وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بر روی ترازوی دیجیتالی و با دقت یک هزارم اندازه‌گیری شد.

ضریب آلومتری: با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Scot and Aldrich, 1983).

$$CA = LS/LR$$

$$LS = \text{طول ساقه‌چه، } LR = \text{طول ریشه‌چه}$$

شاخص طولی بنيه بذر: با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

شاخص طولی بنيه بذر = میانگین طول گیاهچه (گرم) × درصد جوانه‌زنی

شاخص وزنی بنيه بذر: با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Abdul-Baki and Anderson, 1973).

شاخص وزنی بنيه بذر = میانگین وزن گیاهچه (گرم) × درصد جوانه‌زنی

سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز براساس روش Foyer و Halliwell (۱۹۷۶) انجام گرفت. در این روش ۰/۲۵ گرم

و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. در این روش ابتدا ۰/۱ گرم بافت تر توزین، سپس در محلول تری کلرو اسید استیک ۱۰ درصد وزنی حجمی به میزان ۲/۵ میلی لیتر سائیده و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، ۱ میلی لیتر از عصاره رویی و اسید تبواریبوتیک ۰/۵ درصد وزنی حجمی به تری کلرو اسید استیک ۲۰ درصد وزنی - حجمی اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۶ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در نهایت نمونه‌ها جهت متوقف شدن واکنش به مدت پنج دقیقه در آب یخ قرار داده شد. سپس به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب محلول حاصل در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. مقدار مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش پروتئین: اندازه گیری پروتئین به روش Bradford

(۱۹۷۶) انجام گرفت. در این روش مقدار ۰/۲ گرم از نمونه‌های منجمد شده با ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (۶/۸ pH=) هموژن گردید، سپس در دمای ۴ درجه سلسیوس، با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. جهت سنجش غلظت پروتئین، ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئین استخراج شده به داخل میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی لیتری منتقل کرده و از محلول برادفورد به میزان ۹۹۰ میکرولیتر به آن اضافه گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر بر حسب میلی گرم بر گرم بذر محاسبه شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اجرا شد.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی: طبق جدول تجزیه واریانس اثر ساده پرایمینگ و فرسودگی روی درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین نشان داد که درصد جوانه‌زنی در پیش تیمار با سدیم

نیتروپرو ساید ۲۰۰ پی پی ام حدود ۱۰ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد و این صفت با تشدید فرسودگی به طور معنی دار کاهش یافت. به طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی در شاهد (بدون فرسودگی) (۸۶/۵۶ درصد) و کمترین آن در فرسودگی ۴۸ ساعت (۶۸/۳۳ درصد) به دست آمد (جدول ۳ و ۴). پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذپذیری غشای سلولی، افزایش تنفس، خسارت به فرآیند سنتز RNA، تخریب DNA و غیرفعال شدن آنزیم‌ها از دلایل عمده کاهش سرعت جوانه‌زنی در طی فرسودگی بذر هستند (Lehner et al., 2008). در این تحقیق، سدیم نیتروپرو ساید باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شد که با نتایج تحقیق نصیبی و همکاران (۱۳۸۸) روی گوجه‌فرنگی مطابقت داشت. افزایش درصد جوانه‌زنی بذره‌های فرسوده در نتیجه پرایمینگ با سدیم نیتروپرو ساید به دلیل افزایش پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی در سطح سلول است که موجب القای سنتز هورمون‌های محرک جوانه‌زنی از جمله جیبرلین و اتیلن می‌شوند (Varier et al., 2010; Sirova et al., 2011). در این راستا، Hayat و همکاران (۲۰۱۴) افزایش درصد جوانه‌زنی بذور را به دلیل فعال‌سازی بتا دگلوکاناز و تحریک مسیر بیوستیزی هورمون جیبرلین ذکر کرده‌اند. همچنین، افزایش درصد جوانه‌زنی در نتیجه استفاده از سدیم نیتروپرو ساید به دلیل نقش اکسید نیتریک در کاتابولیسم هورمون آبسزیک اسید و تحریک مسیر سیگنالی هورمون اتیلن است که باعث افزایش تولید هورمون اتیلن شده که به تبع آن جوانه‌زنی تحت تنش افزایش می‌یابد (Arc et al., 2013). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که فرسودگی درصد جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد ولی پرایمینگ موجب افزایش این صفت می‌گردد (سعادت و صدقی، ۱۴۰۰؛ سعادت و همکاران، ۱۴۰۰).

ضریب آلومتری: جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر

متقابل پرایمینگ و فرسودگی بر صفت ضریب آلومتری معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین ضریب آلومتری (۲/۲۵۶) در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت مشاهده شد و کمترین ضریب آلومتری (۱/۱۹۳) از پیش تیمار

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات فیزیولوژیکی گیاهچه سویا

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | ضریب تغییر (%) |
|--------------------|------------|--------------------|-------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| | | وزن تر | طول ساقه چه | طول ریشه چه | طول گیاهچه | |
| پرایمینگ | ۲ | ۱۶۸/۷۷** | ۰/۶۱۴** | ۱۰/۶۶۸** | ۳۵/۱۰۷** | ۰/۰۶۸۹۳** |
| فرسودگی | ۲ | ۷۴۷/۴۴** | ۰/۴۳۱** | ۲۷/۳۸۵** | ۴۹/۴۶۹** | ۰/۱۰۲۴۹** |
| پرایمینگ × فرسودگی | ۴ | ۳/۳۹ ^{ns} | ۰/۱۰۱* | ۰/۱۷۵ ^{ns} | ۰/۳۷۱ ^{ns} | ۰/۰۰۰۳۳ ^{ns} |
| اشتباه آزمایشی | ۱۸ | ۱۱/۳۶ | ۰/۰۲۷ | ۰/۳۲۸ | ۰/۴۹۸ | ۰/۰۰۲۹۱ |
| ضریب تغییر (%) | | ۴/۳۵ | ۱۰/۹۵ | ۴/۱۷ | ۷/۳۱۷ | ۹/۷۷ |

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

ادامه جدول ۱-

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | ضریب تغییر (%) |
|--------------------|------------|----------------|-----------|-------------|-----------|----------------|
| | | وزن تر | وزن خشک | وزن خشک | شاخص طولی | |
| پرایمینگ | ۲ | ۰/۰۴۲۷۸۱** | ۰/۰۱۱۱۳** | ۰/۰۰۷۳۲۳۲** | ۰/۰۵۳۱۴** | ۸۷/۸۸** |
| فرسودگی | ۲ | ۰/۰۶۱۰۸۱** | ۰/۰۲۰۰۷** | ۰/۰۰۴۹۷۰۳** | ۰/۱۰۹۷۲** | ۱۴۷/۸۱** |
| پرایمینگ × فرسودگی | ۴ | ۰/۰۰۱۵۴۸** | ۰/۰۰۱۷۶* | ۰/۰۰۰۲۱۰۱* | ۰/۰۰۱۱۸* | ۷/۴۹** |
| اشتباه آزمایشی | ۱۸ | ۰/۰۰۰۳۱۵ | ۰/۰۰۰۵۶ | ۰/۰۰۰۰۵۵۲ | ۰/۰۰۰۳۹ | ۱/۳۱ |
| ضریب تغییر (%) | | ۶/۸۴ | ۱۳/۷۶ | ۷/۴۶ | ۶/۰۱ | ۱۰/۴۰ |

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات بیوشیمیایی گیاهچه سویا

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | ضریب تغییر (%) |
|--------------------|------------|--------------------------|----------|--------------------|-----------|----------------|
| | | گلوتاتین ردوکتاز | لیپاز | مالون دی آلدئید | پروتئین | |
| پرایمینگ | ۲ | ۰/۰۰۰۹۴۴۶۱** | ۱۸/۲۵۷** | ۵۵/۵۷** | ۰/۰۷۱۸۴** | |
| فرسودگی | ۲ | ۰/۰۰۱۱۷۱۳۸** | ۴۵/۸۰۳** | ۱۱۳/۴۹** | ۰/۲۷۷۳۹** | |
| پرایمینگ × فرسودگی | ۴ | ۰/۰۰۰۰۵۷۶۴ ^{ns} | ۰/۹۵۸* | ۱/۴۵ ^{ns} | ۰/۰۰۷۷۱** | |
| اشتباه آزمایشی | ۱۸ | ۰/۰۰۰۰۳۲۸۳ | ۰/۲۹۷ | ۲/۶۶ | ۰/۰۰۱۵۹ | |
| ضریب تغییر (%) | | ۱۰/۶۸ | ۶/۲۸ | ۲۱/۲۰ | ۷/۵۱ | |

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

شرایط فرسودگی این تفاوتها آشکار می شود. به عبارت دیگر در شرایط عادی این صفت تحت تأثیر پرایمینگ قرار نگرفت، ولی در شرایط فرسودگی، نیتروپروساید موجب رشد هم

با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام و بدون فرسودگی مشاهده گردید (شکل ۱). در شرایط عدم فرسودگی، پرایمینگ با نیتروپروساید تأثیری بر ضریب آلومتری نداشت، درحالی که در

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده فرسودگی بر روی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه سویا

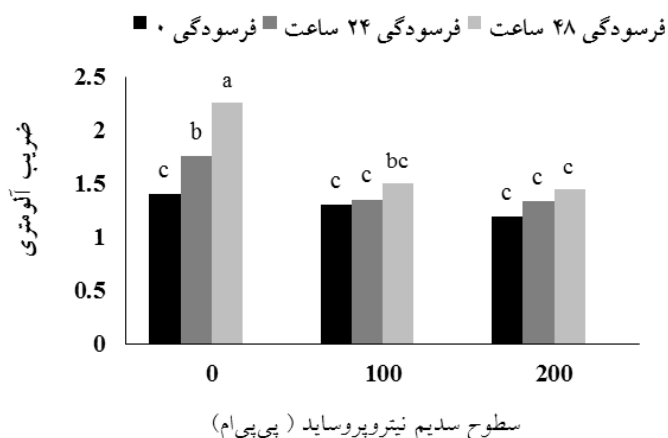
| فرسودگی | مالون دی آلدئید | گلوتاتیون ردکتاز | وزن تر ساقه‌چه (گرم) | طول گیاهچه (میلی‌متر) | طول ریشه‌چه (میلی‌متر) | طول ساقه‌چه (میلی‌متر) | درصد جوانه‌زنی (درصد) |
|---------|--------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|
| شاهد | ۴/۴۹ ^c | ۰/۰۵۵ ^c | ۰/۶۶۱ ^a | ۲۷/۴ ^a | ۱۱/۹۸ ^a | ۱۵/۴ ^a | ۸۶/۵۶ ^a |
| ۲۴ ساعت | ۷/۰۸ ^b | ۰/۰۶۲ ^b | ۰/۵۴۹ ^b | ۲۳/۶ ^b | ۹/۶۶ ^b | ۱۳/۹ ^b | ۷۷/۷۸ ^b |
| ۴۸ ساعت | ۱۱/۵۲ ^a | ۰/۰۷۸ ^a | ۰/۴۴۸ ^c | ۱۹/۲ ^c | ۷/۲۹ ^c | ۱۱/۹ ^c | ۶۸/۳۳ ^c |

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ساده پرایمینگ بر روی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه سویا

| پرایمینگ (پی‌پی‌ام) | درصد جوانه‌زنی (درصد) | طول ساقه‌چه (میلی‌متر) | طول ریشه‌چه (میلی‌متر) | طول گیاهچه (میلی‌متر) | وزن تر ساقه‌چه (گرم) | مالون دی آلدئید | گلوتاتیون ردکتاز |
|---------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| شاهد | ۷۵/۰۰ ^b | ۱۲/۸۰ ^c | ۷/۵۴ ^c | ۲۶/۴ ^a | ۰/۴۵۹ ^c | ۱۰/۳۶ ^a | ۰/۰۵۷ ^b |
| ۱۰۰ | ۷۵/۱۱ ^b | ۱۳/۴۹ ^b | ۹/۹۱ ^b | ۲۳/۴۱ ^b | ۰/۵۶۶ ^b | ۷/۳۵ ^b | ۰/۰۶۱ ^b |
| ۲۰۰ | ۸۲/۵۶ ^a | ۱۴/۹۳ ^a | ۱۱/۴۷ ^a | ۸۲/۵ ^a | ۰/۶۳۳ ^a | ۵/۴۰ ^c | ۰/۰۷۶ ^a |

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی ضریب آلومتری در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا مطابقت داشت. بلوچی و همکاران (۱۳۹۴) در پژوهش بیان کردند که با افزایش فرسودگی ضریب آلومتری در گلرنگ کاهش یافت.

طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و گیاهچه: تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر ساده پرایمینگ و فرسودگی روی طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود

ریشه‌چه و هم ساقه‌چه شده و در نتیجه ضریب آلومتری محدودی ثابت می‌ماند. از تقسیم میانگین طول ریشه‌چه به ساقه‌چه ضریب آلومتری به دست می‌آید، که نشانگر نوعی از تحمل به شرایط تنش است. در این تحقیق، ضریب آلومتری طی فرسودگی افزایش یافت که نشان می‌دهد با افزایش سطوح فرسودگی کاهش طول ساقه‌چه در مقایسه با ریشه‌چه کمتر است، که با نتایج سعادت و صدقی (۱۴۰۰) مبنی بر تأثیر

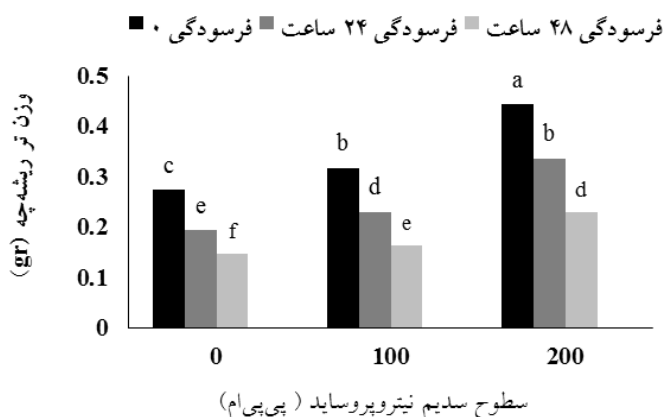
(جدول ۱). بیشترین طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و گیاهچه به ترتیب در پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام به ترتیب در حدود (۱۴، ۳۴ و ۱ درصد) نسبت به شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) افزایش داشت و این صفات با تشدید فرسودگی به‌طور معنی‌دار کاهش یافتند. به‌طوری‌که بیشترین طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و گیاهچه به ترتیب (۱۵/۰۴، ۱۱/۹۸ و ۲۷/۴) در شاهد (بدون فرسودگی) و کمترین آن‌ها به ترتیب (۱۱/۰۹، ۷/۲۹ و ۱۹/۲) در فرسودگی ۴۸ ساعت (۱۱/۰۹ میلی‌متر) به‌دست آمد (جدول ۳ و ۴). علل کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در اثر فرسودگی کاهش کیفیت مواد ذخیره‌ای در طول فرسودگی است (Mortazavi et al., 2005). همچنین، کاهش طول ساقه‌چه و طول گیاهچه تحت تنش ناشی از تجزیه آهسته‌تر مواد آندوسپرم و عدم انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین است (Soltani et al., 2006). افزایش تنفس در گیاهچه ناشی از افزایش میزان گلوکز در خلال فرسودگی بذر و کاهش سنتز پروتئین در اثر فرسودگی نیز موجب کاهش رشد گیاهچه می‌شود (Krishnan et al., 2003; Murthy et al., 2003). یکی از اثرات اکسیدنیتریک کاتابولیسم اسید آسبزیک و تحریک سنتز هورمون‌هایی مانند اتیلن و جبریلین است، به نظر می‌رسد افزایش تقسیم سلولی گیاهچه در بذور پرایم‌شده تحت تنش به دلیل افزایش غلظت جبریلین درون سلولی است. هورمون جبریلین آسیب‌های وارده‌شده به سلول‌ها را طی فرسودگی کاهش داده در نتیجه تقسیم سلول در ساقه‌چه را تحریک می‌کند (Li et al., 2013). افزایش طول گیاهچه‌های سویا در نتیجه پرایمینگ بذر با سدیم نیتروپروساید را می‌توان به قدرت بالای بذر و سرعت جوانه‌زنی بالاتر (در بذره‌ای پرایم‌شده) در مقایسه با شاهد نسبت داد. اکسید نیتریک آزادشده از سدیم نیتروپروساید در تحریک جوانه‌زنی بذر، تقسیم سلولی و بسیاری از اعمال دیگر سلول دخالت داشته و با گونه‌های اکسیژن فعال واکنش داده و خسارت ناشی از آن را کاهش می‌دهد. سدیم نیتروپروساید موجب تحریک تولید اکسین شده و اکسید نیتریک رهاشده از سدیم نیتروپروساید به‌صورت

مستقیم و غیرمستقیم در تقسیم و طویل‌شدن سلولی دخالت داشته و بر افزایش طول گیاهچه اثر مستقیم دارد (He et al., 2008; Neill et al., 2014). پرایمینگ بذرها با غلظت‌های مختلف سدیم نیترو پروساید، از کاهش معنی‌دار شاخص‌های جوانه‌زنی بذره‌ای زوال‌یافته کدوی پوست کاغذی جلوگیری می‌کند (روحی و همکاران، ۱۳۹۸). گزارش شده است که طول ساقه‌چه و ریشه‌چه طی فرسودگی کاهش یافت ولی پرایمینگ باعث افزایش این صفات شد، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (سعادت و صدقی، ۱۴۰۰؛ سعادت و صدقی، ۱۴۰۱؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹a؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹b). تحقیقات نشان داده است که فرسودگی موجب کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در بذره‌ای سویا شد (Maesaroh et al., 2021; Santos et al., 2021; Ebone et al., 2020; Rajendra et al., 2018).

وزن تر ساقه‌چه: طبق جدول تجزیه واریانس اثر ساده پرایمینگ و فرسودگی روی وزن تر ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). وزن تر ساقه‌چه در پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام ۲۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد و این صفت با تشدید فرسودگی کاهش یافت. به‌طوری‌که میزان کاهش وزن تر ساقه‌چه نسبت به تیمار شاهد (بدون فرسودگی) ۳۲ درصد بود (جدول ۳ و ۴).

وزن تر ریشه‌چه: نتایج نشان داد که اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی روی وزن تر ریشه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین وزن تر ریشه‌چه به ترتیب (۰/۴۴۳ گرم) از پیش تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام و بدون فرسودگی مشاهده شد و کمترین وزن تر ریشه‌چه (۰/۱۴۷ گرم) در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت مشاهده شد (شکل ۲).

در این تحقیق، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه طی فرسودگی کاهش یافتند، ولی پرایمینگ با سطوح مختلف سدیم نیترو پروساید آن را افزایش داد، که با نتایج تحقیق انجام گرفته روی گیاهچه برنج و لوبیا مطابقت دارد (سعادت و همکاران، ۱۳۹۹a؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹b). افزایش وزن تر ساقه‌چه

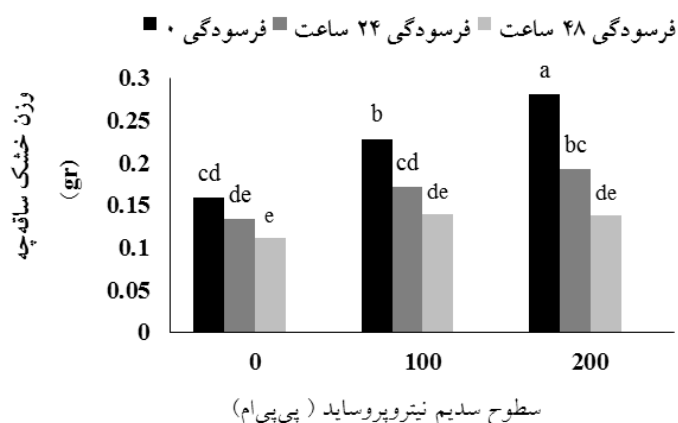


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی وزن تر ریشه‌چه در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

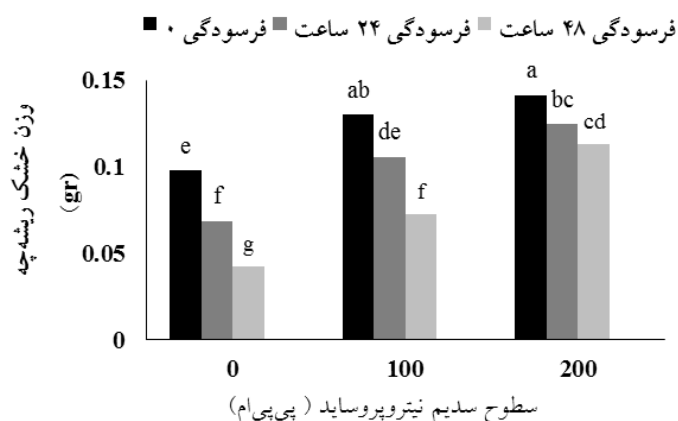
ساقه‌چه در سویا در طول فرسودگی می‌تواند به دلیل کاهش میزان پویایی ذخایر بذر و اختلال در کارکرد آنزیم‌های هیدرولیتیک باشد (Soltani et al., 2006). کاهش وزن خشک ریشه‌چه نیز در سویا طی فرسودگی ناشی از کاهش فعالیت‌های بیوشیمیایی در بذر است، زیرا فرسودگی تأثیر منفی بر آنزیم‌های مورد نیاز برای تبدیل مواد ذخیره‌ای جنین به شکل قابل استفاده و تولید گیاهچه دارد (Sung and Chang, 1993). بذرهای پراپیم شده سرعت جوانه‌زنی بالاتری دارند، این امر باعث می‌شود بذرها، سریع جوانه زده و در نتیجه ماده خشک بیشتری نسبت به بذرهای شاهد تولید کنند (شکاری و همکاران، ۱۳۸۹). پرایمینگ از طریق افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و در نتیجه افزایش وزن خشک گیاهچه می‌شود (عالیوند و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج تحقیق لطیف‌زاده شاهخالی و همکاران (۱۴۰۰) نشان داد که فرسودگی وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه را در چهار رقم برنج کاهش داد. بهبود وزن خشک گیاهچه با کاربرد سدیم نیتروپروساید در سویا، سیاهدانه و چمن‌پوآ تحت تنش گزارش شده است (Aalam, 2019; کبیری و همکاران، ۱۴۰۰؛ جلیل‌زاده خویی و جبارزاده، ۱۳۹۷). سعادت و صدقی (۱۴۰۱) اظهار داشتند که وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه با پرایمینگ تحت شرایط تنش افزایش یافت. تحقیقات نشان داده است که فرسودگی موجب کاهش وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در

و ریشه‌چه با پرایمینگ تحت شرایط تنش گزارش شده است (سعادت و صدقی، ۱۴۰۱). کاهش وزن تر تحت فرسودگی به احتمال زیاد به دلیل کاهش تعداد و اندازه سلول است. پرایمینگ با تأثیر بر رشد محور جنین و نموی گیاهچه باعث افزایش هدایت الکتریکی شده و با تحت تأثیر قرار دادن فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیک گیاهچه سبب افزایش جذب آب و افزایش وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود (Basra et al., 2006).

وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه: اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی روی وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه براساس جدول تجزیه واریانس معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین وزن خشک ساقه‌چه (۰/۲۸۱ گرم) از پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام و بیش‌ترین وزن خشک ریشه‌چه (۰/۱۴۱۳ گرم) از پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۱۰۰ پی‌پی‌ام و بدون فرسودگی مشاهده شد و کم‌ترین وزن خشک ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه به ترتیب (۰/۱۱۱ و ۰/۰۴۲۳ گرم) در شاهد (پرایمینگ با آب‌مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت حاصل گردید (شکل ۳ و ۴). در این تحقیق، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه طی فرسودگی کاهش یافت، ولی پرایمینگ با سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید آن را افزایش داد، که با نتایج تحقیق روی گیاهان مختلف مطابقت دارد (سعادت و همکاران، ۱۳۹۹a؛ سعادت و همکاران، ۱۳۹۹b). کاهش وزن خشک



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی وزن خشک ساقچه در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

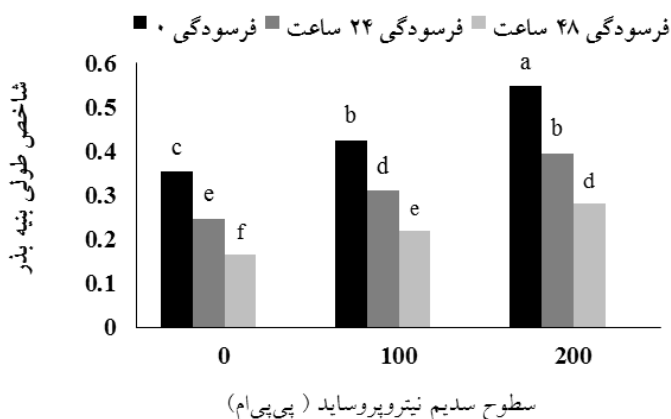


شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی وزن خشک ریشه‌چه در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

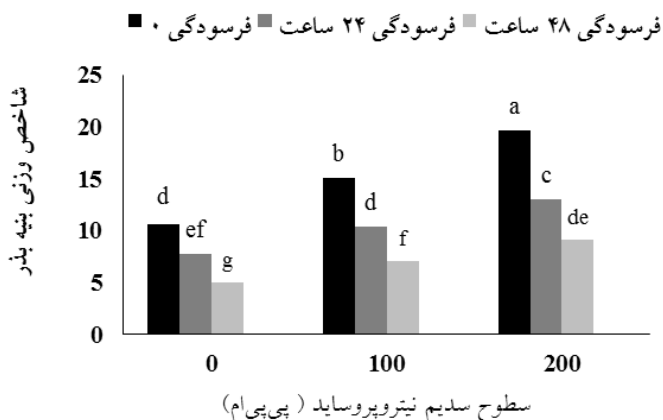
باعث کاهش کیفیت فیزیولوژیکی بذر و کاهش بنیه بذر می‌شود (حاجی‌عباسی و همکاران، ۱۴۰۰). محققین بیان کردند که کاربرد سدیم نیتروپروساید به علت تأثیر سینرژستی روی پراکسید هیدروژن، سرعت انتقال پروتئین‌های ذخیره‌ای به جنین در حال رشد را افزایش داده و در نتیجه بنیه بذر را از این طریق افزایش می‌دهد (Qiao *et al.*, 2014). پرایمینگ با بازسازی DNA، RAN و پرتئین‌سازی باعث حفظ بنیه بذر می‌شود، چرا که این کار موجب ادامه یافتن تقسیم سلولی سلول‌های جنینی شده و منجر به رشد سلول و تقسیم آن‌ها می‌شود (Ventura *et al.*, 2012). همچنین، افزایش طول و وزن گیاهچه‌ها سبب افزایش شاخص طولی و وزنی بنیه بذر

بذرهای سویا شد (Maesaroh *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021; Ebone *et al.*, 2020; Rajendra *et al.*, 2018).

شاخص طولی و وزنی بنیه بذر: براساس جدول تجزیه واریانس اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی روی شاخص طولی و وزنی بنیه بذر معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین شاخص طولی و وزنی بنیه بذر به ترتیب (۰/۵۴۷ و ۱۹/۶۰۵ گرم) از پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام و بدون فرسودگی مشاهده شد و کم‌ترین شاخص طولی بنیه بذر (۰/۱۶۴ گرم) و شاخص وزنی بنیه بذر (۵/۰۱۴ گرم) در شاهد (پرایمینگ با آب‌مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت حاصل گردید (شکل ۵ و ۶). فرسودگی با تخریب غشای سلولی و نشت مواد محلول



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی شاخص طولی بنیه بذر در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی شاخص وزنی بنیه بذر در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در فرسودگی ۴۸ ساعت (۰/۰۷۸ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) و کم‌ترین در آن شاهد (بدون فرسودگی) (۰/۰۵۵ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) به‌دست آمد (جدول ۳ و ۴). گلوکاتایون ردوکتاز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی بوده ولی خواص آنتی‌اکسیدانتی ندارد. در حقیقت این آنزیم، گلوکاتایون دی‌سولفید را به گلوکاتایون تبدیل می‌کند که این کار با مصرف NADPH همراه است (Hossain *et al.*, 2011). این آنزیم باعث تداوم چرخه گلوکاتایون شده و در تجزیه پراکسید هیدروژن به‌طور غیرمستقیم دخالت دارد. فعالیت گلوکاتایون ردوکتاز در طول تنش اکسیداتیو با تخریب DNA کاهش

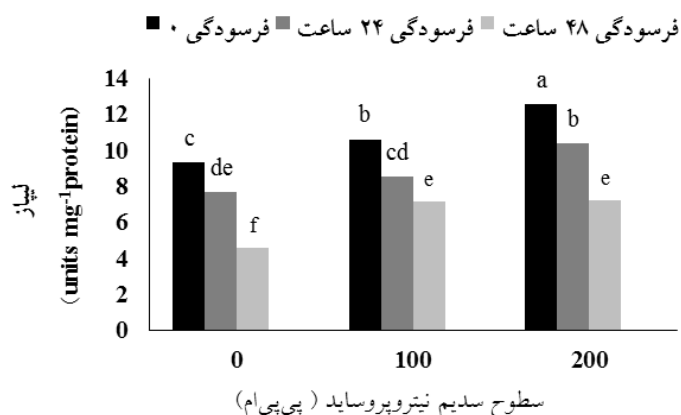
می‌شود. روحی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کرده‌اند که پرایمینگ بذر با نیترو پروساید سدیم موجب افزایش شاخص بنیه بذر نسبت به شاهد می‌شود. افزایش شاخص طولی و وزنی بنیه بذر با پرایمینگ تحت شرایط تنش توسط سعادت و صدقی (۱۴۰۱) گزارش شده است.

آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز: جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و فرسودگی روی آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). جدول مقایسه میانگین نشان می‌دهد که آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز در پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام ۲۵ درصد افزایش نشان داد و این صفت با تشدید فرسودگی

مالون دی‌آلدئید (پراکسیداسیون لیپیدی): جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده پرایمینگ و فرسودگی روی مالون دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین مالون دی‌آلدئید در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) (۱۰/۳۶ میکرومول بر گرم) و کم‌ترین آن (۵/۴۰ میکرومول بر گرم) در پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام حاصل شد و این صفت با تشدید فرسودگی افزایش یافت. به طوری که بیش‌ترین مالون دی‌آلدئید در فرسودگی ۴۸ ساعت (۱۱/۵۲ نانومول بر گرم وزن تر) و کم‌ترین در آن شاهد (بدون فرسودگی) (۴/۴۹ نانومول بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۳ و ۴). مالون دی‌آلدئید شاخصی برای پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها اثرات سوء بر عملکرد میتوکندری به واسطه اضمحلال غشاء داشته و منجر به کاهش میزان ATP تشکیل‌شده در طی جوانه‌زنی می‌شود. همچنین، موجب کاهش سنتز آنزیم‌های ضروری برای مراحل اولیه جوانه‌زنی شده که این اتفاقات زنجیروار جوانه‌زنی و رشد گیاهچه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (McDonald, 1999). تغییر در لیپیدهای غشا سلولی ناشی از پراکسیداسیون، در افزایش نفوذپذیری غشاء و نشت سلولی که مرتبط با فرسودگی بذرهاستند دخالت دارد (شیدایی و همکاران، ۱۳۹۸). با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال طی فرسودگی پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافته و این افزایش منجر به تخریب غشاء سلولی و نشت الکترولیت می‌شود (بلوچی و استادیان بیدگلی، ۱۳۹۷). همچنین، گونه‌های اکسیژن فعال، صدمه به DNA و ناهنجاری‌های کروموزومی را در طول فرسودگی بذرها افزایش می‌دهد (Bewley et al., 2013). نقش اکسید نیتریک در ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها مرتبط به توانایی اکسید نیتریک جهت واکنش با رادیکال‌های لیپید آکوکسیل و لیپید پراکسیل است که منجر به توقف پراکسیداسیون می‌شود (He et al., 2014). سدیم نیتروپروساید با افزایش سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مالون دی‌آلدئید را کاهش می‌دهد (Sirova et al., 2011). مطالعات نشان داده است که با افزایش فرسودگی میزان مالون دی‌آلدئید در سویا و برنج افزایش می‌یابد (شیدایی

می‌یابد. تحقیقات نشان داده که افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز موجب مقاومت به تنش و کاهش آن باعث افزایش حساسیت گیاه به تنش اکسیداتیو می‌شود (Mittler, 2004). کاربرد سدیم نیتروپروساید باعث تحریک آنزیم‌های جاروب‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش تجمع پراکسید هیدروژن در میتوکندری‌ها تحت تنش می‌شود (Shi et al., 2007). گزارشات نشان داده است که کاربرد سدیم نیتروپروساید موجب افزایش آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز نسبت به شاهد می‌شود (فتحی و همکاران، ۱۳۹۷). همچنین، اکسید نیتریک سبب کاهش اثر تنش به وسیله تعدیل فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز و محتوای گلوکاتایون در گیاهچه آفتابگردان شده است (Kaur and Satish Bhatla, 2016).

آنزیم لپاز: طبق جدول تجزیه واریانس اثر متقابل پرایمینگ و فرسودگی روی آنزیم لپاز معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین آنزیم لپاز (۱۲/۵۳۱ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) از پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام و بدون فرسودگی مشاهده شد و کم‌ترین آنزیم لپاز (۴/۶۰۰ واحد میلی‌گرم بر پروتئین) در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت مشاهده شد (شکل ۷). در بذره‌های روغنی، اولین قدم در استفاده از مواد ذخیره‌ای، استفاده از یک واکنش هیدرولیزکننده با کمک آنزیم لپاز است (Bradford and Nonogaki, 2007). به وسیله این آنزیم چربی‌ها به گلیسرول و اسیدهای چرب هیدرولیز می‌شوند. روش تجزیه اسیدهای چربی، بتا‌اکسیداسیون است که باعث شکسته شدن اسیدهای چرب به استیل کوآنزیم A و ATP است. استیل کوآنزیم A جهت اکسیداسیون وارد چرخه کربس شده و تولید ATP می‌کند (Rylott et al., 2001). در نتیجه سویا که گیاهی روغنی است، فعالیت آنزیم لپاز در طول جوانه‌زنی جهت تأمین انرژی اهمیت زیادی دارد، در واقع افزایش آنزیم‌های هیدرولیتیک، در طول پرایمینگ مواد ذخیره‌ای را به ساکارز و گلوکز تبدیل کرده و به جنین انتقال می‌دهد و باعث رشد جنین شده و در نهایت جوانه‌زنی افزایش می‌یابد (Parera and Cantliffe, 1994).

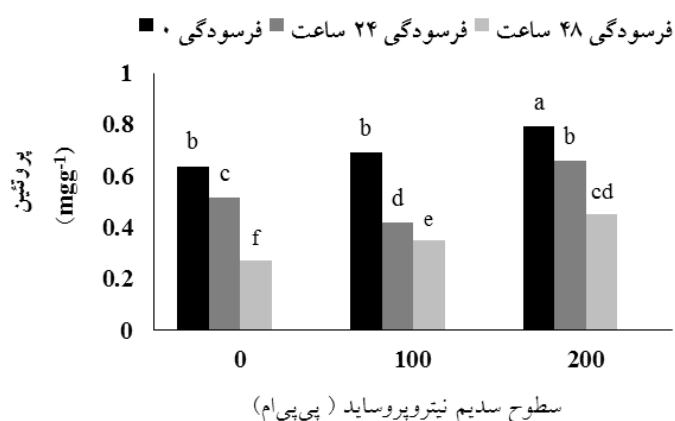


شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروکساید و فرسودگی بر روی لپاز در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

(شکل ۸). کاهش پروتئین در طی فرسودگی به دلیل تخریب آن‌ها توسط پروتئینازها است که موجب هضم پروتئین‌ها می‌گردد و اشاره به فعالیت پروتئولیتیکی بیشتر در طول فرسودگی دارد. بعضی اختلالات در ترکیبات پروتئین‌های غشاء به دلیل واکنش گلیکوسیون غیرآنزیمی پروتئین‌ها و آمینواسیدها با قندهای احیایی در واکنش‌های آما دوری و مایلارد است (Veselovsky and Veselova, 2012). در واقع، پروتئین‌ها به دلیل دناتوره‌شدن و آسیب‌های غیرقابل بازگشت به ساختار آن‌ها در نتیجه حمله رادیکال‌های آزاد طی فرسودگی کاهش می‌یابند (Kapoor *et al.*, 2010). پرایمینگ از طریق سنتز پروتئین‌های جدید این آسیب را کاهش می‌دهد (Kibinza *et al.*, 2011; Tabatabaei, 2013). کاهش تنفس بذر طی فرسودگی و کاهش آمینواسیدهای اولیه در نتیجه حمله ROSها موجب کاهش سنتز پروتئین می‌شود (Bailly, 2004; Jacoby *et al.*, 2012). در طول فرسودگی با افزایش میزان هیدروژن پراکسیداز فعالیت RNA اکسیداز کاهش می‌یابد، افزایش هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های آزاد در سیتوپلاسم در طول فرسودگی منجر به تولید هیدروژن در میتوکندری و غیر-فعال‌شدن فعالیت‌های فتوسنتتیک، ایجاد عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کاهش پیوستگی پروتئین‌ها می‌شود (Berlett and Stadtman, 1997). افزایش پروتئین در پرایمینگ با سدیم نترات پروکساید تحت تنش

و همکاران، ۱۳۹۹؛ لطیف‌زاده شاهخالی و همکاران، ۱۴۰۰؛ افزایش سطوح سدیم نیتروپروکساید تحت تنش موجب کاهش مالون دی‌آلدئید در گیاه کدو پوست کاغدی و انگور شده است (روحی و همکاران، ۱۳۹۸؛ السادات حسینی و ارشادی، ۱۳۹۹)، که با نتایج این تحقیق هم مطابقت داشت. سعادت و همکاران (۱۳۹۸) در تحقیق خود روی بذر لوبیا گزارش کردند که فرسودگی موجب افزایش مالون دی‌آلدئید می‌شود و پرایمینگ میزان آن را کاهش می‌دهد. به طوری که بیش‌ترین میزان مالون دی‌آلدئید در تیمار بدون پرایمینگ تحت فرسودگی بالا مشاهده شده است. کایا و همکاران (Kaya and Akram, 2019) اظهار داشتند که افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید به علت تخریب غشاء ناشی از آسیب اکسیداتیو است. تحقیقات نشان داده است که فرسودگی موجب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش پراکسیداسیون لیپید در بذرهای سویا شد (Maesaroh *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2021; Ebone *et al.*, 2020; Rajendra *et al.*, 2018).

پروتئین: طبق جدول تجزیه واریانس اثر ساده و متقابل پرایمینگ و فرسودگی روی پروتئین معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین مقدار پروتئین (۰/۷۹۳ میلی‌گرم بر گرم) از پیش‌تیمار با سدیم نیتروپروکساید ۲۰۰ پی‌پی‌ام و بدون فرسودگی مشاهده شد و کم‌ترین پروتئین (۰/۲۷۰ میلی‌گرم بر گرم) در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) با فرسودگی ۴۸ ساعت مشاهده گردید



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل سدیم نیتروپروساید و فرسودگی بر روی پروتئین در سویا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر پرایمینگ بذر سویا با سطوح مختلف سدیم نیترو پروساید به مدت ۹ ساعت اثر معنی‌داری بر اکثر صفات مورد مطالعه نشان داد. سدیم نیتروپروساید باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاهچه سویا و فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون ردوکتاز، لپاز و محتوای پروتئین تحت شرایط فرسودگی شد. در این مطالعه مؤثرترین تیمار پرایمینگ بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر سویا پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید ۲۰۰ پی پی ام بود. سدیم نیترو پروساید با کاهش آسیب‌های ناشی از فرسودگی موجب افزایش شاخص‌های رشد، آنزیم‌های گلوکاتایون ردوکتاز، لپاز و پروتئین شد و چنین به نظر می‌رسد که سدیم نیترو پروساید می‌تواند از اثرات سوء ناشی از فرسودگی بکاهد.

می‌تواند به علت کاهش آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش و القاء سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باشد (نصیبی و همکاران، ۱۳۸۸). فرسودگی سبب کاهش پروتئین در لوبیا شده اما پرایمینگ آن را بهبود می‌بخشد (سعادت و همکاران، ۱۳۹۸) که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. در تحقیق دیگر، پرایمینگ بذرها با نیتروپروساید سدیم موجب افزایش پروتئین‌های محلول نسبت به شاهد شد (روحی و همکاران، ۱۳۹۸). پرایمینگ با سدیم نیتروپروساید پروتئین را بهبود می‌بخشد که با نتایج (Yildiz et al., 2020) در جو و (Gavassi et al., 2019) در سویا مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

منابع

اسدی آقبلاغی، معصومه، و رضوی، فرزانه (۱۴۰۰). بهبود جنبه‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذر زوال‌یافته کدوی تخم کاغذی (*Cucurbita pepo*) جمعیت سمیرم استان اصفهان تحت پیش تیمار با اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک. علوم و فناوری بذر

ایران، ۱۰(۳)، ۷۵-۸۸. DOR: 10.22092/IJSST.2020.342748.1337

بلوچی، حمیدرضا، و استادیان بیدگلی، رسول (۱۳۹۷). تأثیر زوال بذر بر صفات جوانه‌زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کتان روغنی (*Linum usitatissimum* L.) توده محلی بزرک قرمز. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۷(۲۳)، ۲۰۶-۲۰۹.

<http://jispp.iut.ac.ir/article-1-953-fa.html>

بلوچی، حمیدرضا، کایدنظامی، راضیه، و باقری، فهیمه (۱۳۹۴). تأثیر تنش فرسودگی بذر بر جوانه‌زنی و مولفه‌های رشد گیاهچه‌های

سه رقم گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.). مجله تولیدات گیاهی، ۳۸، ۲۷-۴۰. <https://sid.ir/paper/165089/fa>

جلیل زاده خویی، المیرا، و جبارزاده، زهرا (۱۳۹۷). تأثیر کاربرد نیتریک اکسید بر جوانه زنی بذر چمن پوآ تحت شرایط شوری. دهمین گنکره علوم باغبانی ایران، ۱۳ تا ۱۶ شهریور، تهران، ایران.

حاجی عباسی، محبوبه، توکل افشاری، رضا، عباسی، علیرضا، و کمائی، رضا (۱۴۰۰). اثر اسید سالیسیلیک و اتیلن بر جوانه زنی و بیان ژن های آلفا آمیلاز و بتا آمیلاز در بذر زوال یافته سویا (*Glycine max*). علوم و فناوری بذر ایران، ۱۰(۱)، ۱۵۶-۱۴۱. DOR: 10.22092/IJSST.2019.125038.1257

روحی، حسین رضا، مرادی، علی، ثمن، مریم، شاهبداغلو، علیرضا، و محمدی، یاسین (۱۳۹۸). بهبود کارآیی بذرهای زوال یافته کدوی پوست کاغذی با استفاده از پیش تیمار نیترو پروساید سدیم تحت تنش خشکی. علوم و فناوری بذر ایران، ۸(۱)، ۶۷-۸۱. <https://sid.ir/paper/525032/fa>

السادات حسینی، محدثه، و ارشادی، احمد (۱۳۹۹). تأثیر ملاتونین و سدیم نیتروپروساید بر تحمل انگور رقم بیدانه سفید تحت تنش خشکی. پایان نامه کارشناسی. دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان.

سعادت، طیبه، صدقی، محمد، قلی پوری، عبدالقیوم، سیدشریفی، رئوف، و شیخ بگلو، رقیه (۱۳۹۸). اثر پرایمینگ و فرسودگی بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و تحرک ذخایر بذر لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris L.*) رقم صدری. علوم و فناوری بذر ایران، ۸(۲)، ۱۹-۳۲. DOR: 10.22034/ijssst.2018.116851.1154

سعادت، طیبه، علیدوست، حمیده، و صدقی، محمد (۱۳۹۹a). تأثیر پرایمینگ و فرسودگی بر جوانه زنی توده های بذر برنج با قدرت متفاوت. نشریه تحقیقات بذر، ۱۰(۴)، ۶۰-۶۷. DOR: 20.1001.1.22520961.1399.10.37.7.5

سعادت، طیبه، صدقی، محمد، قلی پوری، عبدالقیوم، سیدشریفی، رئوف، و شیخ بگلو، رقیه (۱۳۹۹b). تأثیر پرایمینگ و فرسودگی بذر بر خصوصیات جوانه زنی، ویژگی های بیوشیمیایی و بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدانت در لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*). علوم و تحقیقات بذر ایران، ۷(۱)، ۱-۱۳. DOR: 10.22124/jms.2020.4267

سعادت، طیبه، علیدوست، حمیده، و صدقی، محمد (۱۴۰۰). اثر پرایمینگ بر فعالیت و بیان ژن های آنزیم های آنتی اکسیدانت در بذرهای فرسوده برنج. نشریه تحقیقات بذر، ۱۱(۴)، ۴۶-۵۴. DOR: 10.30495/JSR.2022.1928952.1210

سعادت، هانیه، و صدقی، محمد (۱۴۰۰). تأثیر پرایمینگ و فرسودگی بر روی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا رقم صدری (*Phaseolus vulgaris L.*). نشریه تحقیقات بذر، ۱۱(۳)، ۷۵-۸۷. DOR: 10.30495/JSR.2022.1945870.1228

سعادت، هانیه، و صدقی، محمد (۱۴۰۱). تأثیر سطوح مختلف کیتوزان روی شاخص های رشد گیاهچه برنج (*Oryza sativa L.*) تحت تنش شوری. دومین کنفرانس ملی مدیریت سبز پسماند، ۲۱ تا ۲۲ شهریور، اردبیل، ایران.

شکاری، فرید، بالجانی، رامین، صبا، جلال، افصحی، کامران، و شکاری، فریبرز (۱۳۸۹). تأثیر پرایمینگ با سالیسیلیک اسید روی خصوصیات رشدی گیاهچه گاوزبان (*Borago officinalis*). بوم شناسی گیاهان زراعی (دانش نوین کشاورزی)، ۶(۱۸)، ۴۷-۵۳.

شیدایی، سامان، حمیدی، آیدین، صادقی، حسین، و سکویی، بیتا (۱۳۹۹). بررسی تأثیر کیفیت اولیه بذر و شرایط انبارداری بر تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بذر سویا. نشریه علوم و فناوری بذر ایران، ۹(۲)، ۱۱۸-۱۰۱. DOR: 10.22034/IJSST.2019.123739.1232

شیدایی، سامان، حمیدی، آیدین، صادقی، حسین، سکویی، بیتا، و زارع، لیلیا (۱۳۹۸). تأثیر قارچ های انباری بر زوال بذر سویا در شرایط مختلف نگهداری و رطوبت بذر. پژوهش های بذر ایران، ۱۶(۱)، ۶۵-۷۶. DOR: 10.29252/yujs.6.1.65

عالیوند، رامین، توکل افشار، رضا، و شریف زاده، فرزاد (۱۳۹۱). بررسی تأثیر جیبرلین، اسید سالیسیلیک و اسید آسکوربیک بر بهبود خصوصیات جوانه زنی بذر زوال یافته کلزا. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۳(۴)، ۵۶۱-۵۷۱. DOR: 10.22059/IJFCS.2013.29413

فتحی، علیرضا، برادران فیروزآبادی، مهدی، و عامریان، محمدرضا (۱۳۹۷). تأثیر نیتریک اکسید بر جوانه زنی و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کنجد (*Sesamun indicum*) تحت تنش شوری. *علوم و تحقیقات بذر ایران*، ۵(۳)، ۷۷-۸۸.
DOR: 10.22124/JMS.2018.2936

کبیری، رزینا، نقی‌زاده، مهدی، و دلفانی، مریم (۱۴۰۰). اثر پیش تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود جوانه زنی و رشد اولیه سیاهدانه (*Nigella sativa*) تحت تنش شوری. *علوم و تحقیقات بذر ایران*، ۸(۲)، ۱۷۷-۱۹۴.
DOR: 10.22124/JMS.2021.5219

لطیف‌زاده شاهخالی، محدثه، احتشامی، سید محمدرضا، و مرادی، فواد (۱۴۰۰). بررسی تأثیر زوال طبیعی و مصنوعی بذر بر گونه‌های فعال اکسیژن، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و خصوصیات جوانه زنی بذر در ارقام محلی و اصلاح شده برنج (*Oryza sativa*) حاصل از مزارع استان گیلان. *مجله پژوهش‌های بذر ایران*، ۸(۲)، ۲۱-۴۰.
DOR: 20.1001.1.23831251.1400.8.2.8.4

نصیبی، فاطمه، منوچهری کلانتری، خسرو، و خداشناس، منصوره (۱۳۸۸). اثر پیش تیمار سدیم نیترو پروساید (SNP) بر برخی عوامل بیوشیمیایی گیاهچه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) تحت تنش خشکی. *مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی*، ۱۶(۲)، ۱۲۱-۱۳۳.

- Aalam, L., Sedghi, M., & Sofalian, O. (2019). Sodium nitroprusside and salicylic acid decrease antioxidant enzymes activity in soybean. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 10(1), 3073-3077. <https://doi.org/10.30495/IJPP.2019.670792>
- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*, 13(6), 630-633. <https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x>
- Ahmad, P., Abdel Latef, A. A., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Guce, S., & Tran, L. S. P. (2016). Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. *Frontiers in Plant Science*, 7, 347. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00347>
- Arc, E., Sechet, J., Corbineau, F., Rajjou, L., & Marionpoll, A. (2013). ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science*, 4(63), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00063>
- Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14(2), 93-107. <https://doi.org/10.1079/SSR2004159>
- Basra, A. S., Farooq, M., Afzal, I., & Hussain, M. (2006). Influence of osmopriming on the germination and early seedling growth of coarse and fine rice. *International Journal of Agriculture Biology*, 8, 19-21.
- Becerra-Vazquez, A. G., Coates, R., & Sanchez-Nieto, S. (2020). Effects of seed priming on germination and seedling growth of desiccation-sensitive seeds from Mexican tropical rainforest. *Journal of Plant Research*, 133(6), 855-872. <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01220-0>
- Beligni, M., & Lamattina, L. (1999). Is nitric oxide toxic or protective?. *Trends in Plant Science* 4(8), 299-300. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01451-X](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01451-X)
- Berlett, B. S., & Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(3), 20313-20316. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.33.20313>
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W., & Nonogaki, H. (2013). *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3rd Ed. Springer, New York.
- Bradford, K. J., & Nonogaki, H. (2007). *Seed development, dormancy and germination*. Blackwell Publishing Ltd.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(7), 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Dong, Y. J., Wang, Z. L., Zhang, J. W., Liu, S., He, Z. L., & He, M. R. (2015). Interaction effects of nitric oxide and salicylic acid in alleviating salt stress of *Gossypium hirsutum* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 15(3), 561-573. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162015005000024>
- Ebone, L. A., Caverzan, A., Tagliari, A., Chiomento, J., Silveira, D., & Chavarria, G. (2020). Soybean seed vigor: Uniformity and growth as key factors to improve yield. *Agronomy Journal*, 10(4), 1-15. <http://dx.doi.org/10.3390/agronomy10040545>
- Foyer, C. H., & Halliwell, B. (1976). The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Plantarom*, 133, 21-25. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00386001>
- Gao, J., Fu, H., Zhou, X., Chen, Z., Luo, Y., Cui, B., Chen, G., & Liu, J. (2016). Comparative proteomic analysis of seed embryo proteins associated with seed storability in rice (*Oryza sativa* L.) during natural aging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 103, 31-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.02.026>
- Gavassi, M. A., Gaion, L. A., Montciro, C. C., Santos, J. C., & Carvalho, R. F. (2019). Seed priming with sodium

- nitroprusside attenuates the effects of water deficit on soybean seedlings. *Common Science*, 10(1), 176-184. <http://dx.doi.org/10.14295/cs.v10i1.2842>
- Hayat, S., Yadav, S., Alyemeni, M. N., & Ahmad, A. (2014). Effect of sodium nitroprusside on the germination and antioxidant activities of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20(1), 140-144.
- He, J., Ren, Y., Chen, X., & Chen, H. (2014). Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108, 114-119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.021>
- Heath, L. R., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts, Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hossain, M. A., Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2011). Glyoxalase system and reactive oxygen species detoxification system in plant abiotic stress response and tolerance. In: An Intimate Relationship, in Abiotic Stress in Plants- Mechanisms and Adaptations (eds. Shanker, A. K. and Venkateswarlu, B.) Pp. 235-266.
- Huang, J., & Redmann, R. E. (1995). Salt tolerance of hordeum and brassica species during germination and early seeding growth. *Canadian Journal of Plant Science*, 75(4), 815-819. <https://doi.org/10.4141/cjps95-137>
- ISTA. (2012). International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- Jacoby, R. P., Huang, L. Li, S., Lee, C. P., Millar, A. H., & Taylor, N. L. (2012). Mitochondrial composition, function and stress response in plants. *Journal International Plant Biologia*, 54(11), 887-906. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2012.01177.x>.
- Janmohammadi, M., Moradi Dezfuli, P., & Sharifzadeh, F. (2008). Seed invigoration techniques to improve germination and early growth of inbred line of maize under salinity and drought stress. *General and Applied Plant Physiology*, 34(3-4), 215-226.
- Kapoor, N., Aria, A., Siddiqui, M. A., Amir, A., & Kumar, H. (2010). Seed deterioration in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under accelerated ageing. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9, 158-162. <https://scialert.net/abstract/?doi=ajps.2010.158.162>
- Kaur, H., & Satish Bhatla, C. (2016). Melatonin and nitric oxide modulate glutathione content and glutathione reductase activity in Sunflower seedling cotyledons accompanying salt stress. *Nitric Oxide*, 59, 42-53. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.07.001>
- Kaya, C., & Akram, N. A. (2019). Influence of exogenously applied nitric oxide on strawberry (*Fragaria × ananassa*) plants grown under iron deficiency and/or saline stress. *Physiologia Plantarum*, 165(2), 247-263. <https://doi.org/10.1111/ppl.12818>
- Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., & Naeem, M. (2012). Interactive role of nitric oxide and calcium chloride in enhancing tolerance to salt stress. *Nitric Oxide*, 27(4), 210-218. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2012.07.005>
- Kibinza, A., Bazin, J., Bailly, C., Farrant, J. M., & Corbineau, F. (2011). Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*, 181(3), 309-315. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.06.003>
- Krishnan, P., Nagarajan, S., Dadlani, M., & Moharir, A. V. (2003). Characterization of wheat (*Triticum aestivum*) and soybean (*Glycine max*) seeds under accelerated ageing conditions by proton nuclear magnetic spectroscopy. *Seed Science and Technology*, 31(3), 541-550. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.03>
- Lehner, A., Mamadou, N., Poels, P., Come, D., Bailly, C., & Corbineau, F. (2008). Change in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during aging in wheat grains. *Journal of Cereal Science*, 47(3), 555-565. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.017>
- Li, X., Jiang, H., Liu, F., Cai, J., Dai, T., Cao, W., & Jinag, D. (2013). Induction of chilling tolerance in wheat during germination by pre-soaking seed with nitric oxide and gibberellin. *Plant Growth Regulation*, 71, 31-40. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9805-8>
- Liu, H., Song, J., Dong, L., Wang, D., Zhang, S., & Liu, J. (2017). Physiological responses of three soybean species (*Glycine soja*, *G. gracilis*, and *G. max* cv. Melrose) to salinity stress. *International Journal of Plant Research*, 130(4), 723-733. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0929-1>
- Liu, S., Dong, Y., Xu, L., & Kong, J. (2014). Effects of foliar applications of nitric oxide and salicylic acid on salt-induced changes in photosynthesis and antioxidative metabolism of cotton seedlings. *Plant Growth Regulation*, 73(1), 67-78. <https://doi.org/10.1007/s10725-013-9868-6>
- Lodhi, K., & Diwan, U. K. (2018). Effect of natural organic fertilizer (seaweed saps) on productivity and protein status of soybean. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 5(1), 157-168.
- Maesaroh, S., Wahyu, Y., & Widajati, E. (2021). Seed storability and genetic parameters estimation on accelerated aging seed of argomulyo soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) Mutant lines. *Journal of Agricultural Sciences*, 31(3), 763-775. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.911571>

- McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27(1), 177-237. <http://pascal.francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=1898410>
- Mittler, R. (2004). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9)
- Mortazavi, S. S. M., Pasban Eslam, B., Tajbaksh, M., & Zardashti, M. (2005) Effect of seed deterioration and salinity stress on seedling vigor of chickpea (*Cicer arietinum*) in laboratory and greenhouse conditions. *Agricultural Science Journal*, 15, 131-147.
- Mostofa, M. G., Fujita, M., & Tran, L. S. P. (2015). Nitric oxide mediates hydrogen peroxide-and salicylic acid-induced salt tolerance in rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 77(3), 265-277. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0061-y>
- Murthy, U. M. N., Kumar, P. D., & Sun, W.Q. (2003). Mechanisms of seed aging under different storable conditions for *Vigna radiata* (L.) wilczek: Lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to state transition. *Journal of Experimental Botany*, 54(384), 1057-1067. <https://doi.org/10.1093/jxb/erg092>
- Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., Morris, P., Rieeiro, D., & Wilson, I. (2008). Nitric oxide, stomatal closure and abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 59(2), 165-176. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm293>
- Paparella, S., Araujo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., & Balestrazzi, A. (2015). Seed priming: State of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34(8), 1281-1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>
- Parera, C., & Cantliffe, D. (1994). Dehydration rate after solid matrix alters seed performance of shrunken-2 corn. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119(3), 629-35. <https://doi.org/10.21273/JASHS.119.3.629>
- Qiao, W., Li, C., & Fan, L. M. (2014). Cross-talk between nitric oxide and hydrogen peroxide in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 100, 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.12.014>
- Rajendra, D., Satpute, A., & Sanjay, P. (2018). Studies on physiology of soybean seeds by applying tool of accelerated aging test for vigor assessment. *Journal of Pharma and Bio Science*, 7(3), 2319-8141.
- Rylott, E. L., Hooks, M. A., & Graham, I. A. (2001). Co-ordinate regulation of genes involved in storage lipid mobilization in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemical Society Transactions*, 29(2), 283-287. <https://doi.org/10.1042/bst0290283>
- Santa-Cruz, D. M., Pacienza, N. A., Zilli, C. G., Tomaro, M. L., Balestrasse, K. B., & Yannarelli, G. G. (2014). Nitric oxide induces specific isoforms of antioxidant enzymes in soybean leaves subjected to enhanced ultravioletB radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 141, 202-209. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.09.019>
- Santos, R. F., Placido, H. F., Bosche, L. L., Neto, H. Z., Ferando, H., & Alessandro, B. (2021). Accelerated aging methodologies for evaluating physiological potential of treated soybean seeds. *Journal of Seed Science*, 43(41), e202143028. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43250605>
- Scot, W. O., & Aldrich, S. R. (1983). Modern Soybean Production. S & A Publication, Champaign, IL.USA.
- Shi, Q., Fei, D., Xiufeng, W., & Min, W. (2007). Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(8), 542-550. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005>
- Sirova, J., Sedlaova, M., Piterkova, J., Luhova, L., & Petrivalsky, M. (2011). The role of nitric oxide in the germination of plant seeds and pollen. *Plant Science*, 181(5), 560-572. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.03.014>
- Soltani, A., Robertson, M. J., Torabi, B., Yousefi-Daz, M., & Sarparast, R. (2006). Modeling seedling emergence in chickpea as influenced by temperature and sowing depth. *Agricultural and Forest Meteorology*, 138(1-4), 156-167. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2006.04.004>
- Sung, J. M., & Chang, Y. H. (1993). Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. *Seed Science and Technology*, 21, 97-105.
- Tabatabaei, S. A. (2013). The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 9(4), 132-138.
- Variar, A., Vari, A. K., & Dadlani, M. (2010). The subcellular basis of seed priming. *Current Science*, 99, 450-456.
- Ventura, L., Dona, M., Macovei, A., Carbonera, D., Buttafava, A., Mondoni, A., Rossi, G., & Balestrazzi, A. (2012). Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 196-206. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.031>
- Verma, D., Kanagaraj, A., Jin, S., Singh, N. D., Kolattukudy P. E., & Daniell, H. (2010). Chloroplast-derived enzyme cocktails hydrolyse lignocellulosic biomass and release fermentable sugars. *Journal of Plant Biology*, 8, 332-350. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00486.x>
- Veselovsky, V. A., & Veselova, T. V. (2012). Lipid peroxidation, carbohydrate hydrolysis, and amadori maillard reaction at early stages of dry seed aging. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(6), 811-817.

<https://doi.org/10.1134/S1021443712030181>

- Yadu, S., Dewangan, T. L., Chandrakar, V., & Keshavkant, S. (2017). Imperative roles of salicylic acid and nitric oxide in improving salinity tolerance in *Pisum sativum* L. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(1), 43-58. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0394-7>
- Yildiz, M., Celik, M., & Terzi, H. (2020). Proteomic analysis of the protective effect of sodium nitroprusside on leaves of barley stressed by salinity. *European Journal of Biology*, 79(2), 89-97. <https://doi.org/10.26650/EurJBiol.2020.0026>
- Yu, S., Zhu, X., Yang, H., Yu, L., & Zhang, Y. (2021). A simple new method for aged seed utilization based on melatonin mediated germination and antioxidant nutrient production. *Scientific Reports*, 11(1), 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85541-7>

Effect of sodium nitroprusside pretreatment on the improvement of physiological and biochemical characteristics of soybean (*Glycine max* L.) Merrill (cv. Williams) seeds under the influence of accelerated aging

Haniyeh Saadat, Mohammad Sedghi*

Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 2023/04/11, Accepted: 2023/10/02)

Abstract

In order to investigate the effect of sodium nitroprusside pretreatment on the improvement of physiological and biochemical characteristics of soybean seed cv. Williams under the influence of accelerated aging, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2023. Experimental treatments included accelerated aging treatment at three levels (control, 24 and 48 hours) and sodium nitroprusside at three levels (control, 100 and 200 ppm). The results showed that aging reduced growth indices including Germination Percentage (GP), Allometric Coefficient (AC), Radicle length (RL), Plumule length (PL) and seedling length (SL), Radicle and Plumule Fresh Weight (RFW and PFW), Radicle and Plumule Dry Weight (RDW and PDW), Seed Weight Vigor Index (SWVI) and Seed Length Vigor Index (SLVI), but seed pretreatment with different levels of sodium Nitroprusside, especially the level of 200 ppm, improved these traits. Pretreatment with sodium nitroprusside decreased the amount of malondialdehyde, so the highest content of malondialdehyde (10.36 $\mu\text{mol/g}$) observed in the control treatment (priming with distilled water). Glutathione reductase enzyme activity increased by 25% in pretreatment with sodium nitroprusside 200. The activity of the lipase enzyme and protein content with pretreatment sodium nitroprusside 200 ppm and without aging was increased by about 63 and 66%, respectively. The results showed that seed treatment with sodium nitroprusside 200 ppm is the most effective method to improve soybean seed growth indicators, and by stimulating antioxidant enzymes and neutralizing free radicals, it can reduce the harmful effects of aging on some traits in soybean seedlings and improve seedling growth.

Keywords: Aging, Biochemical traits, Germination Indicators, Priming, Sodium Nitroprusside

Corresponding author, Email: m_sedghi@uma.ac.ir