



تأثیر روش‌های مختلف پرایمینگ بر خصوصیات جوانه زنی بذر گلرنگ

(*Carthamus tinctorius*) تحت شرایط تنش خشکی

سیده ندا پور رحیم علی آبادی^۱ فیاض آقایی^{۱*} و داوود حبیبی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول: فیاض آقایی، Aghayari_ir@yahoo.com

چکیده:

به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف پرایمینگ بذر بر خصوصیات جوانه زنی بذر گلرنگ تحت شرایط تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار در سال ۱۳۹۳ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد کرج اجرا شد. فاکتور اول شامل سطوح مختلف پرایمینگ در ۵ سطح (بدون پرایمینگ، پرایمینگ با آب مقطر (هیدرو پرایمینگ)، پرایمینگ با پلی اتیلن گلیکول ۰/۱ مگا پاسکال، پرایمینگ با نیترا پتاسیم ۲ درصد و پرایمینگ با کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار) و فاکتور دوم شامل سطوح مختلف تنش خشکی در ۵ سطح (صفر، ۲-، ۴-، ۶-، ۸- بار) می‌باشد. در این مطالعه صفات درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، متوسط طول ریشه چه، متوسط طول ساقه چه و وزن خشک گیاهچه اندازه گیری و تعیین گردید. مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس خصوصیات جوانه زنی گلرنگ اثر اصلی روش پرایمینگ بر صفت وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ معنی دار گردید. اثر اصلی تنش خشکی بر تمامی صفات در سطح احتمال ۱٪ معنی دار گردید. همچنین اثر متقابل روش پرایمینگ و تنش خشکی بر صفت سرعت جوانه زنی در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد. تحت شرایط تنش خشکی پرایمینگ بذر با استفاده از هیدروپرایمینگ، پرایمینگ با پلی اتیلن گلیکول و نیترا پتاسیم به طور معنی داری باعث بهبودی صفت وزن خشک گیاهچه نسبت به شاهد گردید.

واژه‌های کلیدی: پیمایش تیمار بذر، تنش خشکی، گلرنگ

مقدمه:

، خشکی منجر به کاهش ارتفاع و رشد گیاه می‌شود زیرا تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها در اثر کاهش فشار اسمزی درون سلول کاهش می‌یابد. (Casenave & Toselli (2007 گزارش کردند در اثر تنش خشکی، مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و روغن کاهش یافت در حالی که مقدار پروتئین در ژنوتیپ‌های پنبه تحت دوره کوتاه خشکی افزایش یافت. خشکی موجب کاهش سرعت جوانه زنی و افزایش پراکندگی و غیریکنواختی گیاهچه گردیده و عملکرد نهایی را کاهش می‌دهد (اشرف و فولاد، ۲۰۰۵). اخیراً، توجه به سمت استفاده از تکنیک‌های مختلف پرایمینگ در شرایط تنش خشکی در مزرعه جلب شده است. در طی جوانه زنی بذر ممکن است محیط خاک اطراف بذر، برای جوانه زنی و رشد سریع گیاهچه مناسب نباشد. تنش‌های زنده و غیر زنده مانند درجه حرارت بالا و پایین، خشکی و غرقابی بودن، شوری، حشرات و عوامل بیماری‌زا، سرعت، درصد جوانه زنی و رشد گیاهچه را کاهش می‌دهد یا به طور کامل از جوانه زنی بذور و ظهور گیاهچه



جلوگیری می‌نماید (Ashraf & Foolad , 2005). هدف از پرایمینگ بذر، آبدهی جزئی آنهاست، به طوری که بذر در مرحله‌ی اول، جذب فیزیکی آب، و در مرحله دوم، شروع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها را پشت سر می‌گذارد ولی از ورود به مرحله‌ی سوم جوانه‌زنی که شامل رشد ریشه چه است، بازداشته می‌شود (Bradford, 1995). پرایمینگ بذر بر روی سنتز DNA , RNA و پروتئین مؤثر است و همچنین رشد جنین را بهبود می‌بخشد (Mcdonald, 2000).

Haris و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند هیدروپرایمینگ منجر به بهبود استقرار گیاهچه و بنیه بذر ذرت، نخود و برنج آپلند می‌شود که این امر باعث تسریع در نمو، گلدهی، بلوغ و عملکرد بیش‌تر می‌شود. در برنج، پیش تیمار بذور در محلول نمک‌های مخلوط منجر به افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های آلفا- آمیلاز، بتا-آمیلاز و در هیدروژناز ریشه و نیز افزایش ملایم فعالیت کاتالاز بخش هوایی گیاه گردید (Chang-Zhenget al., 2002). تأثیر پیش تیمار آبی در افزایش وزن‌تر گیاهچه‌های آفتابگردان نسبت به پیش تیمار اسمزی تحت تنش کم آبی محسوس‌تر بوده است. همچنین در هر دو تنشکاهش طول ساقچه بیشتر از طول ریشه چه بود (Demir kayaet al., 2006). کاسیرو و همکاران (Caseiroet al., 2004) در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که پیش تیمار آبی مؤثرترین روش برای بهبود جوانه‌زنی بذور پیاز می‌باشد و زمانی که بذور پیاز به مدت ۹۶ ساعت در آب خیسانده شده باشند جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های پیاز یکنواخت گردیده و درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی کاهش می‌یابد. پیش تیمار بذرهای سویا با ۰/۲۵ مول NaCl به مدت ۲۴ ساعت باعث افزایش تعداد دانه و کاهش تعداد نیام‌های بدون دانه شد، ولی وزن هزار دانه تحت تاثیر قرار نگرفت (Eleiwaet al., 1989). بنابر این با توجه به اهمیت و ضرورت بهبود روش های جوانه زنی، هدف از این تحقیق بررسی تأثیر روش‌های مختلف پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گلرنگ تحت شرایط تنش خشکی می‌باشد.



مواد و روشها:

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف پرایمینگ بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر گلرنگ تحت شرایط تنش خشکی در ۱۳۹۳ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج اجرا شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. فاکتور اول که شامل روش‌های مختلف پرایمینگ در ۵ سطح (بدون پرایمینگ (شاهد)، هیدروپرایمینگ، پرایمینگ با پلی اتیلن گلیکول، پرایمینگ با کلرید سدیم و پرایمینگ با نیترات پتاسیم) و فاکتور دوم شامل تنش خشکی در ۵ سطح (صفر، -۲، -۴، -۶، -۸ بار) می‌باشد. بذور از مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال تهیه شد. برای جلوگیری از فعالیت میکروب‌های مختلف، بذور را ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰.۵٪ و سپس از قارچ کش کاربندازیم ۰.۲٪ به مدت ۵ دقیقه قرار داده و سپس برای اینکه اثر بقایای محلول روی آنها باقی نماند، چندین بار با آب مقطر شستشو داده و خشک گردید. برای انجام هیدروپرایمینگ از آب مقطر استریل استفاده گردید و بذرها به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خیسانده و پس از این مدت از آب خارج شدند. برای پرایمینگ به وسیله پلی اتیلن گلیکول (PEG) ۰/۱ مگاپاسکال بذرها به مدت ۱۲ ساعت در دمای متناوب ۱۸/۲۵ درجه سانتی‌گراد روز/شب قرار داده شدند. برای ایجاد محلول پلی اتیلن گلیکول ۰/۱ مگاپاسکال مقدار ۷۸/۵ گرم پودر PEG 6000 در یک لیتر آب حل گردید. سپس بذرها از محلول خارج شد. پس از آن، چندین بار با آب مقطر شسته شدند. برای پرایمینگ بذور به وسیله نیترات پتاسیم (KNO₃) ۲ درصد بذور به مدت ۱۲ ساعت در دمای متناوب ۱۸/۲۵ درجه سانتی‌گراد روز/شب ژرمیناتور قرار داده شدند. مقدار غلظت مورد استفاده ۲ گرم در ۱۰۰ سی سی آب می‌باشد. سپس بذرها از محلول خارج شده و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. برای پرایمینگ بذور به وسیله کلرید سدیم (NaCl) ۱۰۰ میلی‌مولار بذور به مدت ۱۲ ساعت در دمای متناوب ۱۸/۲۵ درجه سانتی‌گراد روز/شب ژرمیناتور قرار داده شدند. مقدار غلظت مورد استفاده ۵/۹ گرم در یک لیتر آب مقطر می‌باشد.

بهمنظور تهیه پتانسیل های مختلف تشخیصیاز پلیاتیلن گلیکول (PEG₆₀₀₀) باروشمیشل و کافمن به صورت زیر استفاده شد.

(1)

$$\Psi = -(1/18 \times 10^{-2})C - (1/18 \times 10^{-2})C^2 + (2/67 \times 10^{-4})CT + (8/39 \times 10^{-7})C^2T$$

در این رابطه Ψ پتانسیل اسمزی بر حسب بار، C مقدار پلیاتیلن گلیکول بر حسب گرم بر لیتر و T دما بر حسب درجه سانتی‌گراد می‌باشد. در این مطالعه صفات درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، متوسط طول ریشه چه، متوسط طول ساقه چه و وزن خشک گیاهچه اندازه گیری و تعیین گردید. تعداد بذرها جوانه زده در هر تکرار به صورت روزانه تا ۱۴ روز شمارش گردید. ظهور ریشه چه به اندازه دو میلیمتر به عنوان معیاری برای جوانه زنی بذرها در نظر گرفته شد. برای تعیین درصد جوانه زنی از رابطه زیر استفاده شد.

(2)

$$\frac{T}{S} \times 100 = \text{درصد جوانه زنی}$$



که در آن:

T = تعداد بذره‌های جوانه زده

S = تعداد بذور قرار داده شده در هر پتری دیش میباشد.

سرعت جوانه زنی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Ellis and Roberts, 1981):

$$GR = \sum \left(\frac{N_i}{T_i} \right) \quad (3)$$

N_i = تعداد جوانه در روز i ام

T_i = روزهای سپری شده از شروع آزمایش

GR = سرعت جوانه زنی (تعداد در روز)

به منظور اجرای هر تیمار ۲۵ عدد بذور سالم گلرنگ ضد عفونیشده شمارش در هر یک از پتری دیسها بطوریکه نوآختبر روی کاغذ صاف قرار گرفتند و به هر یک از آنها ۵ میلیلیتر از محلولهای مورد نظر اضافه شد به گونه ای که کاغذ صاف کاملاً آغشته به محلول گردید. سپس با خار جکر در نخبها به یهود از زیر کاغذ صاف در پتری دیسها توسط پارافیل مپستهود در اطاق کربن دایکساید با شرایط مایه ۱۸/۲۵ درجه سانتیگراد روز/شب قرار گرفتند. شمارش روزانه بذور جوانه زده گلرنگ به منظور تعیین سرعت جوانه زنی پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع آزمایش در شرایط یکسانی از روز انجام شد. معیار جوانه زنی خروجریشه چهار محدود ۲ میلیمتر یا بذور بود. شمارش تا زمانی که تعداد بذور جوانه زده تا سه روز متوالی در هر نمونه ثابت بود ادامه یافت. در پایان آزمایشها استفاده از هفت نمونه تصادفی از هر تیمار، وزن تر ریشه‌ها و ساقچه‌ها، طول ریشه‌ها و ساقچه‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌های آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزارهای SAS، تجزیه واریانس و میانگین‌ها داده‌ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح احتمال ۵٪، مقایسه شدند. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث:

مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس خصوصیات جوانه زنی گلرنگ اثر اصلی روش پرآیمنگ بر صفت وزن خشک گیاهچه در سطح احتمال ۱٪ معنی دار گردید. اثر اصلی تنش خشکی بر تمامی صفات در سطح احتمال ۱٪ معنی دار گردید. همچنین اثر متقابل روش پرآیمنگ و تنش خشکی بر صفت سرعت جوانه زنی در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد (جدول ۱). با مقایسه میانگین صفت وزن خشک گیاهچه گلرنگ نسبت به روش‌های مختلف پرآیمنگ معلوم گردید که هیدرو پرآیمنگ (۱۷/۱۷۳ میلیگرم)، روش پرآیمنگ با پلی اتیلن گلیکول (۱۶/۹۸۶ میلیگرم) و نترات پتاسیم (۱۶/۸۳۷ میلیگرم) بیشترین مقدار وزن خشک گیاهچه را دارا بودند و در یک گروه آماری قرار گرفتند، در ضمن در حالت بدون پرآیمنگ وزن خشک گیاهچه



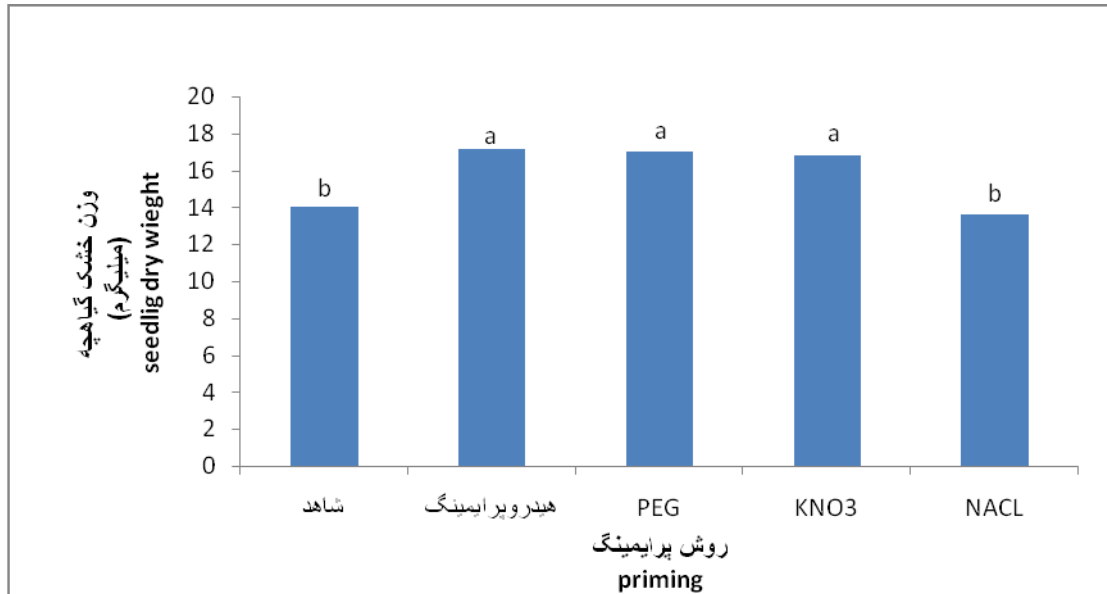
(۱۴/۰۲۱ میلیگرم) می باشد (شکل ۱). در گندم پیش تیمارهای آبی و ماتریکی نسبت به پیش تیمار اسمزی با NaCl تاثیر بیشتری داشتند به طوری که در پیش تیمارهای آبی و ماتریکی سرعت و درصد جوانه زنی بذور گندم نسبت به پیش تیمار اسمزی بالاتر بود (بسرا و همکاران، ۲۰۰۵). تاثیر پیش تیمار آبی در افزایش وزن تر گیاهچه های آفتابگردان نسبت به پیش تیمار اسمزی تحت تنش کم آبی محسوس تر بوده است (دمیرکایا و همکاران، ۲۰۰۶). به نظر می رسد که این نوع پیش تیمار روشی ساده و سودمند برای بهبود استقرار گیاهچه ها و عملکرد دانه گیاهان زراعی است. پلی اتیلن گلیکول به آسانی مورد استفاده قرار می گیرد، با دانه واکنش شیمیایی ندارد و اثرات سازگار و سودمندی را روی برخی از گونه ها می گذارد. از مزیت های این ماده قابلیت حل بالای آن در آب می باشد. فرت و همکاران (Frett, et al 1991) دریافتند که پیش تیمار بذور گوجه فرنگی و مارچوبه (آسپاراگوس) با پلی اتیلن گلیکول (PEG) در مقایسه با سایر نمک های غیر آلی پاسخ بهتری نشان می دهند، در حالی که استفاده از محلول های نمک های معدنی جوانه زنی را کاهش می دهند زیرا که به غشاهای سلولی آسیب وارد کرده و موجب تغییرات آنزیمی می شوند که در نهایت روی رشد بعدی گیاه اثر منفی دارد. نیترات پتاسیم به عنوان یک ماده ی شیمیایی برای افزایش جوانه زنی بذرهای شناخته شده است. استفاده از محلول ۰/۱ تا ۰/۲ درصد نیترات پتاسیم در آزمایش های جوانه زنی معمولی عمومیت دارد (ISTA, 1996). این افزایش بر اثر پیش تیمار ناشی از افزایش فعالیت های متابولیکی طی جذب آب است که باعث می شود بذور پیش تیمار شده از لحاظ مراحل جوانه زنی نسبت به بذور شاهد پیشرفته باشند (بسرا و همکاران، ۲۰۰۲). سرعت جوانه زنی معیار مستقیمی از قدرت بذر است و افزایش آن به معنی افزایش تعداد بذور جوانه زده در هر روز در مقایسه با شاهد می باشد. بدیهی است که سرعت جوانه زنی بالا موجب بهبود استقرار گیاهچه ها در مزرعه شده و در نهایت دستیابی به عملکرد مطلوب را میسر می سازد با افزایش غلظت های تنش خشکی، درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، متوسط طول ریشه چه و متوسط طول ساقه چه کاهش پیدا می کند (شکل ۲ و ۳ و ۴ و ۵). با توجه به مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و روش پرایمینگ معلوم شد که استفاده از روش های پرایمینگ تاثیری بر خصوصیات جوانه زنی نداشت (شکل ۶).



جدول ۱: جدول تجزیه واریانس خصوصیات جوانه زنی گلرنک در روش های مختلف پرایمینگ تحت شرایط تنش خشکی

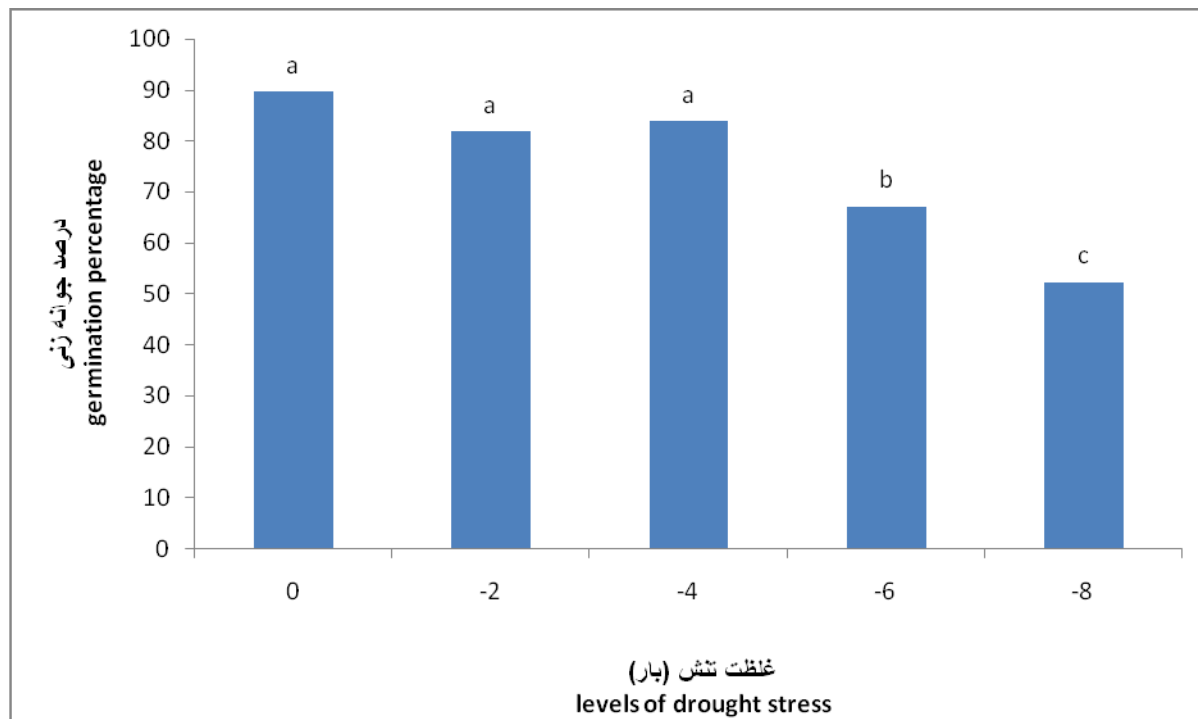
Table 1: Analysis of variance of seed germination of *Carthamus tinctorious* under drought stress

| میانگین مربعات (M.S.) | | | | | | |
|---------------------------|-----------------|---|-----------------------------------|---|--|--------------------------------------|
| منابع تغییرات (S.O.V) | درجه آزادی (Df) | درصد جوانه زنی (germination percentage) | سرعت جوانه زنی (germination rate) | متوسط طول ریشه (average length of root) | متوسط طول ساقه (average length of plumule) | وزن خشک گیاهچه (seedling dry weight) |
| روش پرایمینگ (a) | ۴ | ۱۸۲/۲۴ | ۵۵/۸۶ | ۷/۳۰ | ۰/۹۷ | ۶۲/۱۰** |
| سطوح تنش خشکی (b) | ۴ | ۴۵۸۷/۴۴** | ۳۲۶۲/۸۰** | ۲۵/۵۴** | ۳۷/۱۵** | ۱۰۳۱/۳۶** |
| اثر متقابل a*b | ۱۶ | ۲۷۴/۰۴ | ۵۸/۷۷** | ۴/۵۴ | ۰/۵۹ | ۱۶/۸۷ |
| خطا (Error) | ۷۵ | ۱۹۳/۹۷ | ۱۷/۰۳ | ۲/۲۵ | ۰/۷۶ | ۱۶/۳۰ |
| ضریب تغییرات (درصد) (C.V) | | ۱۸/۵۸ | ۲۳/۴۱ | ۳۹/۱۶ | ۲۸/۸۶ | ۲۵/۶۸ |



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر روش‌های مختلف پرایمینگ بر صفت وزن خشک گیاهچه در بذر گلرنگ

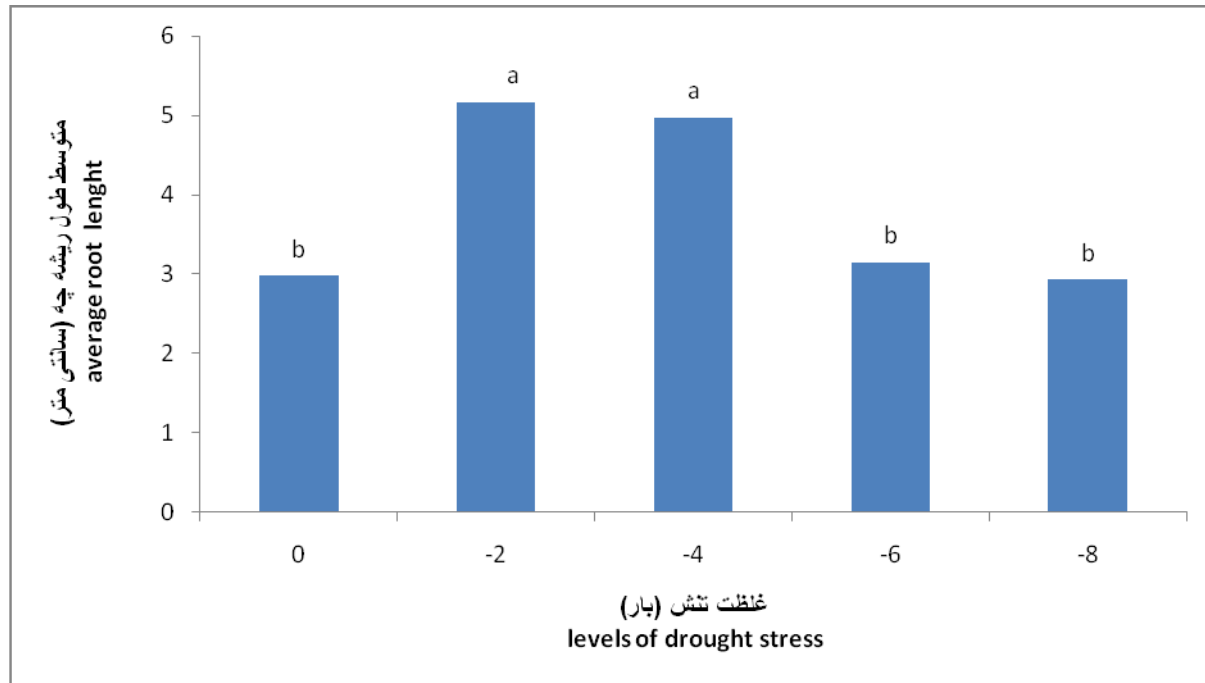
Fig1: comparing the effect of different method of priming on seedling dry weight of Carthamustinctorious



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفت درصد جوانه زنی بذر گلرنگ

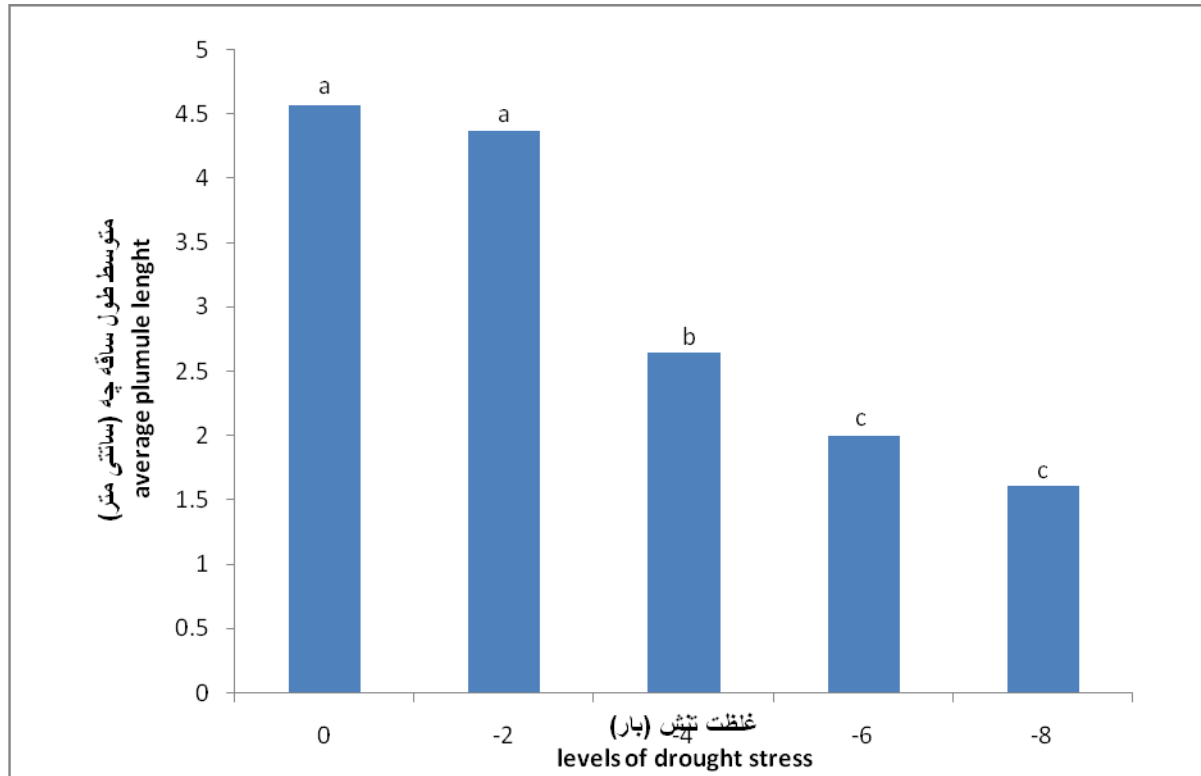


Fig2: Comparing the effect of different levels of drought stress on germination percentage of Carthamustinctorius



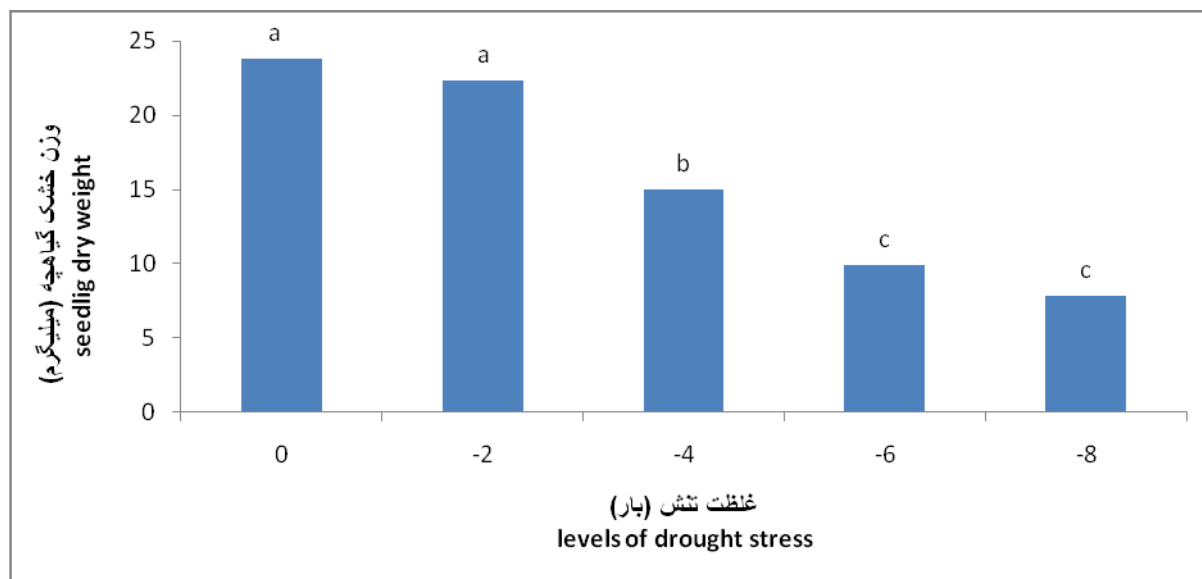
شکل ۳: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفت متوسط طول ریشه چه بذر گلرنگ

Fig3: Comparing the effect of different levels of drought stress on average root length of Carthamustinctorius



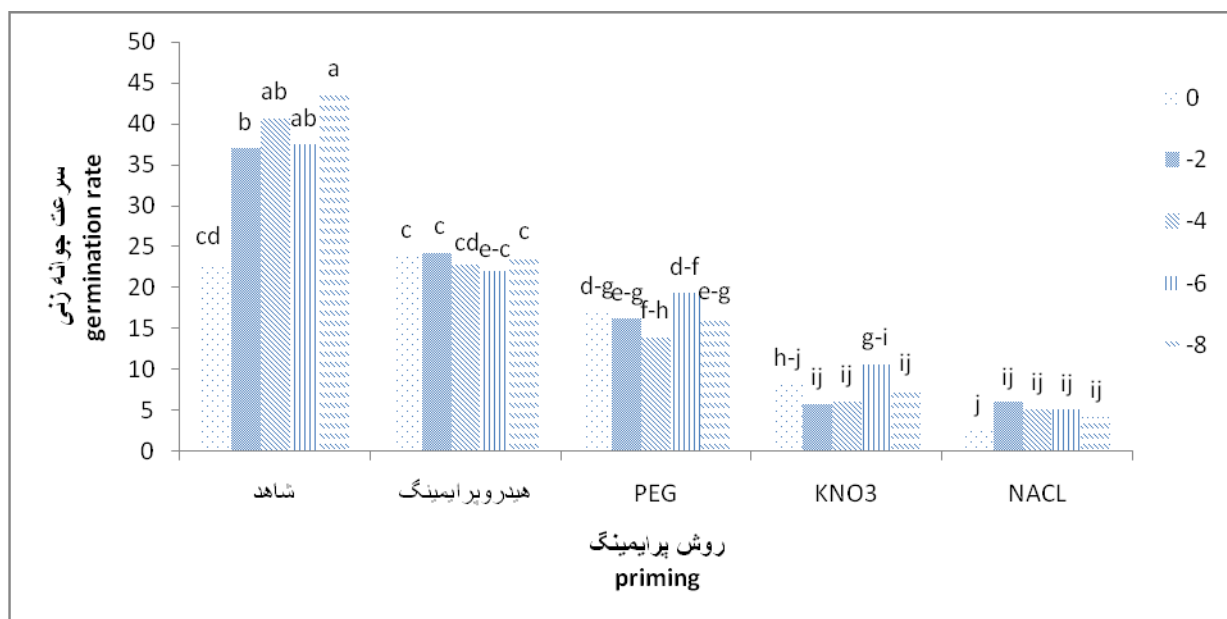
شکل ۴: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفت متوسط طول ساقه چه بذر گلرنگ

Fig4: Comparing the effect of different levels of drought stress on average shoot length of Carthamustinctorius



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر صفت وزن خشک گیاهچه گلرنگ

Fig5: Comparing the effect of different levels of drought stress on seedling dry weight of Carthamustinctorious



شکل ۶: مقایسه میانگین اثرات متقابل روش پرایمینگ و تنش خشکی بر صفت سرعت جوانه زنی بذر گلرنگ

Fig6: The Comparing of the average interactive effects of drought stress and priming on germination rate of Carthamustinctorious



نتیجه گیری:

در بین روش های مختلف پرایمینگ، هیدروپرایمینگ، پرایمینگ با پلی اتیلن گلیکول و پرایمینگ با نیترات پتاسیم باعث افزایش وزن خشک گیاهچه بذرگلرنگ گردید. لذا استفاده از سه روش مورد نظر یعنی پرایمینگ پلی اتیلن گلیکول، پرایمینگ با نیترات پتاسیم و هیدروپرایمینگ در شرایط تنش خشکی میتواند باعث افزایش بهبودی وزن خشک گیاهچه و استقرار بهتر گیاهچه گردد. پیشنهاد میگردد برای تکمیل نتایج این تحقیق، مطالعات دیگری بر اساس غلظت های مختلف پرایمینگ و مدت زمان متفاوت پرایمینگ بر روی روشهای مختلف پرایم ارائه شده در این تحقیق مورد آزمون و تست قرار گیرد.

References:

- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005.** Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. *Advan. Agron.* 88: 223-271.
- Basra, S.M.A., Afzal, I., Rashid, A.R. and Farooq, M. 2005.** Pre-sowing seed treatment to improve germination and seedling growth in wheat (*Triticum aestvum L.*) *Cadernode pesquisa Ser. Bio., Santa. Cruz de sul.*, 17: 155-164.
- Basra, S.M.A., Zia, M.N., Mehmood, T., Afzal, I. and Khaliq, A. 2002.** Comparison of different invigoration techniques in wheat (*Triticum aestvum L.*) Seeds. *Pakistan J. of arid Agri.*, 5: 325-329.
- Bradford, K.J. 1995.** Water relations in seed germination. *In* "Seed Development and Germination" (J. Kigel and G. Galili, Eds.), pp. 351-396. Marcel Dekker Inc., New York.
- Caseiro, R., Bennett, M.A. and Marcos-Filho, J. 2004,** comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. *Seed Sci. Technol.*, 23: 365-375
- Chang-Zheng, H., Jin, H.H., Zhi-Yu, Z., Song-Lin, R. and Wen-Jian, S. 2002.** Effect of seed priming with mixed-salt solution on germination and physiological characteristics of seeding in rice (*oryza sativa L.*) under stress conditions, *J. agri. Life Sci.*, 28: 175-178.
- Chauhan B., S., G. gill. and Preston C. 2006.** Influence of environmental factors on seed germination.
- Demir Kaya, M., Okcu. G., Atak, M.A. and Kolsarici, O. (2006).** Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower. *European Journal of Agronomy* 24: 291-295.
- Eleiwa, M.E. 1989.** Effect of prolonged seed soaking on the organic and mineral components of immature pods of soybeans. *Egypt. J. Bot.*, 32: 149-160.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981.** The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol.*, 9: 373-409.
- FAO. 2000.** Extent and causes of salt-affected soils in participating countries. Available on URL: <http://www.fao.org/ag/AGL/agll/spuch/topic4.htm>.
- Frett, J.J., Pill. W.G. and morneau, D.C. 1991.** A comparison of priming agents for tomato and asparagus seeds. *Sci. hort.*, 26: 151-159.
- Hadas A. 1977.** A simple laboratory approach to test and estimate seed Germination performance under field conditions. *Agronomy journal.* 69: 582-588.



سومین ہمایش ملے مباحث نوین در کشاورزی
3rd National Conference on
New Concepts in Agriculture

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه
دانشکده کشاورزی
پنجشنبه ۲۶ آذر ماه ۱۳۹۴



- Harris, D., Joshi, A., Khan, P. A., Gothkar, P. and Sodhi, P. S., 1999.** On-farm seed priming in semi-arid agriculture development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Experiment of Agriculture*, 35: 15-29.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1996,** International rules for seed testing. Rules 1996. *Seed Science and Technol* 24, Supplement, 155-202.
- Kumar, R., Singh, G.P. and Bose, B. 2004.** Increment in seed germination, growth and nitrate reductase activity in seedling of $Mg(NO_3)_2$ hardened seeds of mustard cruciferae. *News Lett., France*, (Submitted).
- McDonald, M. B., 2000.** Seed priming. (eds. M. Black and J. D. Bewley). Sheffield Academic press. PP: 287-325.