



Razi University

# Cereal Biotechnology and Biochemistry


Online ISSN: 2783-5170




Cereal Biotechnology and Biochemistry

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

## The reaction of biochemical and germination traits of deteriorated wheat seeds to hydropriming

Mohammad Hasan Vafaei<sup>1</sup>   & Hossein Reza Rouhi<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

 Corresponding author. E-mail: [m.vafaei@basu.ac.ir](mailto:m.vafaei@basu.ac.ir)

### ABSTRACT

**Introduction:** The importance of wheat as a strategic product among other crops is that it has the largest cultivated area in the world and Iran. On the other hand, seed deterioration is a natural phenomenon in which seeds lose their viability and quality even under optimal storage conditions. In some crops, damage due to deterioration has been reported to be up to 50%. Part of this damage is related to the decrease in the speed and percentage of seed germination, which leads to a decrease in the plant density and the failure to achieve the desired density, especially in unfavorable conditions, resulting in crop yield decreases. In this experiment, the subject of the study was the ability of seed hydropriming to improve damage caused by the deterioration of wheat seeds (var. Alvand).

**Materials and methods:** This experiment was carried out in the Laboratory of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, as a factorial in a completely randomized design with four replications. The seed used for the experiment was the Alvand variety. Wheat seeds deteriorated by accelerated aging method for 48 hours at 40 °C. Then, the deteriorated seeds were primed with distilled water at 20 °C for 4, 8 and 12 hours. The examined traits include germination percentage, mean germination time, germination rate, seedling length, electrolyte leakage, malondialdehyde content, soluble sugars, soluble proteins, and activity of catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase enzymes.

**Results:** The results showed that seed hydropriming in all three time periods used significantly improved the characteristics of germination percentage, germination rate, seedling length, antioxidant enzymes activity (catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase), the soluble sugars and proteins of the seeds were found to deteriorate. Among the examined traits, the mean germination time, electrolyte leakage and malondialdehyde content of primed seeds decreased compared to non-primed seeds. Hydropriming for 4, 8, and 12 hours increased final germination to 15.9, 32.3, and 58.3 %, with germination rates of 7.7, 53.8, and 84.6 % compared to non-primed seeds, respectively. Regarding the activity of antioxidant enzymes, seed hydropriming at 4, 8, and 12 hours increased catalase activity by 12.4, 27.2, and 39.2%, superoxide dismutase activity by 15.9, 31.9, 35.4% and increased ascorbate peroxidase enzyme activity by 38.3, 40.4, and 44.9%, respectively, compared to non-primed.

**Conclusion:** Based on the results of this experiment, it can be concluded that the application of distilled water for 12 hours as the best priming time is recommended to recover the lost quality of deteriorated wheat seeds and improve the germination characteristics of the Alvand variety.

**Keywords:** Soluble sugars and proteins, Superoxide dismutase, Soluble sugars.

**Article Type:** Research Article

**Article history:** Received: 12 Jun 2023, Revised: 26 Jul 2023, Accepted: 18 Aug 2023, Published online: 23 Sept 2023

**Cite this article:** Vafaei, M. H. & Rouhi, H. R. (2023). The reaction of biochemical and germination traits of deteriorated wheat seeds to hydropriming. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 2(3), 326-339. DOI: [10.22126/cbb.2023.9880.1059](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.9880.1059)



© The Author(s).  
 [10.22126/cbb.2023.9880.1059](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.9880.1059)

**Publisher:** Razi University



## واکنش صفات بیوشیمیایی و جوانه‌زنی بذرهاى زوال یافته گندم به هیدروپرایمینگ

محمد حسن وفائی<sup>۱</sup> و حسین رضا روحی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

نویسنده مسئول، رایانامه: [m.vafaei@basu.ac.ir](mailto:m.vafaei@basu.ac.ir)

### چکیده

**مقدمه:** اهمیت گندم به عنوان یک محصول استراتژیک در میان سایر گیاهان زراعی به حدی است که بیشترین سطح زیر کشت را در جهان و همچنین ایران به خود اختصاص داده است. از سوی دیگر زوال بذر پدیده‌ای طبیعی است که بذرها قوه نامیه و کیفیت خود را حتی در شرایط مطلوب نگهداری از دست می‌دهند. در برخی از محصولات زراعی خسارت ناشی از زوال تا ۵۰ درصد نیز گزارش شده است. بخشی از این خسارت مربوط به کاهش سرعت و درصد سبز شدن بذرها بوده که منجر به کاهش تراکم بوته، عدم دستیابی به تراکم مطلوب به ویژه در شرایط نامساعد مزرعه شده و در نتیجه موجب کاهش عملکرد محصول می‌گردد. در این آزمایش نقش هیدروپرایمینگ بذر در بهبود خسارت ناشی از زوال بذر گندم (رقم الوند) مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینای همدان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. بذرهاى گندم رقم الوند به روش پیری تسریع شده به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد زوال یافتند. سپس بذور زوال یافته در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴، ۸ و ۱۲ ساعت با آب مقطر پرایم شدند. صفات مورد بررسی شامل درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، نشت الکترولیتی، محتوای مالون دی‌آلدئید، قندهای محلول، پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز بود.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد، هیدروپرایمینگ بذر در هر سه بازه زمانی مورد استفاده، به‌طور معنی‌داری موجب بهبود صفات درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز)، قندها و پروتئین‌های محلول بذرهاى زوال یافته گردید. در بین صفات مورد بررسی، متوسط زمان جوانه‌زنی، نشت الکترولیتی و محتوای مالون دی‌آلدئید بذرهاى پرایم شده در مقایسه با بذرهاى پرایم نشده کاهش یافت. هیدروپرایمینگ به مدت ۴، ۸ و ۱۲ ساعت درصد جوانه‌زنی بذرها را به ترتیب ۱۵/۹، ۳۲/۳، ۵۸/۳ درصد و سرعت جوانه‌زنی را به ترتیب ۱۷/۵، ۸۵/۱، ۲۰/۱۷ درصد در مقایسه با بذرهاى پرایم نشده افزایش داد. در خصوص فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، هیدروپرایمینگ بذر در زمان‌های ۴، ۸ و ۱۲ ساعت فعالیت آنزیم کاتالاز را ۲۷/۲، ۳۹/۲ درصد، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را به ترتیب ۱۵/۸، ۳۱/۹، ۳۵/۴ درصد و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را به ترتیب ۳۸/۳، ۴۰/۴، ۴۴/۹ درصد نسبت به بذرهاى پرایم نشده افزایش داد.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج بدست آمده از این آزمایش می‌توان گفت کاربرد آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت به‌عنوان بهترین زمان پرایمینگ، جهت بازیابی کیفیت از دست رفته بذرهاى زوال یافته گندم و بهبود خصوصیات جوانه‌زنی رقم الوند قابل توصیه باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پروتئین‌های محلول، سوپراکسید دیسموتاز، قندهای محلول.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۲۲ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۵/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۷، انتشار آنلاین: ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

استناد: وفائی، م. ح. و روحی، ح. ر. (۱۴۰۲). واکنش صفات بیوشیمیایی و جوانه‌زنی بذرهاى زوال یافته گندم به هیدروپرایمینگ. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات، ۳(۳)،

DOI: [10.22126/cbb.2023.9880.1059](https://doi.org/10.22126/cbb.2023.9880.1059) ۳۳۹-۳۲۶



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه رازی

## مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) محصولی استراتژیک و از مهمترین گیاهان زراعی دنیا محسوب شده که سطح زیر کشت آن در ایران به ۶ میلیون هکتار می‌رسد (FAO, 2022). از آنجا که این محصول در ابتدای فصل تابستان برداشت شده و جهت کشت در فصل بعدی باید مدتی در انبار نگهداری شود، شرایط انبار به‌ویژه دما و رطوبت نسبی تأثیر چشمگیری بر قابلیت جوانه‌زنی گندم در مزرعه دارد (Kheirabadi et al., 2017). همچنین، صدمات مکانیکی در زمان برداشت و جابجایی محصول به‌همراه شرایط نامطلوب دمایی و رطوبتی انبار می‌توانند سرعت فرآیند زوال بذر را تسریع نموده که نتیجه آن کاهش کیفیت فیزیولوژیکی بذر خواهد بود (Rouhi et al., 2021). با این توضیح زوال از جمله عوامل ایجاد خسارت در بذر بوده که سبب کاهش قابلیت انبارداری، جوانه‌زنی غیریکنواخت، استقرار ضعیف، کاهش قابلیت رقابت و در نهایت کاهش عملکرد محصول می‌گردد (Kapoor et al., 2010; Rouhi et al., 2021). پرایمینگ بذر به عنوان روشی قابل قبول جهت بهبود کارایی بذر تحت تنش‌های اکسیداتیو در نقاط مختلف جهان محسوب می‌شود (Yan, 2015). در این میان پرایمینگ بذر با آب مقطر (Hydropriming) ساده‌ترین، اقتصادی‌ترین و امن‌ترین روش جهت افزایش کارایی بذر، استقرار گیاهچه و تولید محصول ذکر شده است (Yan, 2015; Forti et al., 2021). میزان سودمندی این روش به عوامل مختلفی از جمله گونه گیاهی، مدت زمان

پرایمینگ و بنیه بذر بستگی دارد (Forti et al., 2021). احمد و همکاران (Ahmad et al., 2014) اظهار داشته‌اند استفاده از آب مقطر جهت پرایمینگ بذر، ارزانتترین روش در شرایط نامساعد بوده و کاربرد مواد شیمیایی را به حداقل می‌رساند. قاسمی گلعدانی و همکاران (Ghasemi-Golezani et al., 2013) نیز ادعان نمودند پرایمینگ بذرهای عدس (*Lens culinaris*) با آب مقطر موجب افزایش ارتفاع بوته، تعداد غلاف و تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، شاخص برداشت، عملکرد بیولوژیکی و عملکرد دانه در مقایسه با گروه شاهد شده است. علاوه بر این، پژوهش‌های صورت گرفته در بسیاری از محصولات زراعی نشان داده پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پس از هیدروپرایمینگ بذر افزایش یافته است (Wattanakupakin et al., 2012; Yan, 2015; Lopez et al., 2016; Forti et al., 2021). این مطالعات نشان داده‌اند هیدروپرایمینگ با بهبود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع محلول‌های سازگار همراه بوده است. با این حال، تغییرات بیوشیمیایی ناشی از پرایمینگ بذر با آب مقطر به ندرت در بذرهای زوال یافته گندم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر این روش بر خصوصیات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته گندم بود.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان با استفاده از

متوسط زمان جوانه‌زنی (MGT) از رابطه (۲) محاسبه شد (Ellis & Roberts, 1981):

$$MGT = \sum Dn/n \quad (\text{رابطه ۲})$$

در رابطه فوق، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز D و D تعداد روزهای شمارش از آغاز جوانه‌زنی می باشد سرعت جوانه‌زنی با استفاده رابطه (۳) محاسبه شد:

$$GR = 1/MGT \quad (\text{رابطه ۳})$$

اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول بذر با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی (CyberScan PC 510) انجام شد. برای این منظور از ۵۰ بذر در چهار تکرار برای هر تیمار استفاده گردید. ابتدا وزن خشک بذر با توسط ترازوی با دقت یک‌صدم گرم (Sartorius BA310S) اندازه‌گیری شد. سپس بذر با به ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر منتقل و توسط فویل آلومینیومی پوشانده و در ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت ظروف حاوی آب و توده بذر از ژرمیناتور خارج و محلول به آرامی به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه همزده شد، دمای محلول زمان اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. هدایت الکتریکی آب مقطر (شاهد) نیز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین و از مقدار هدایت الکتریکی حاصل از هر تیمار کسر شد (Hampton & TeKrony, 1995). میزان هدایت الکتریکی برحسب وزن بذر مربوط برای هر نمونه با استفاده از رابطه (۵) تعیین گردید:

بذرهای گندم رقم الوند انجام شد. بذرهای مورد استفاده از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه بوعلی سینای همدان در سال ۱۴۰۰ تهیه شد. قوه نامیه بذرهای مورد آزمایش قبل از اعمال پیری تسریع‌شده براساس آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به روش بین کاغذ (Between paper) به مدت ۸ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد مورد ارزیابی قرار گرفت (ISTA, 2007). برای انجام پیری تسریع شده، ۱۰۰ عدد بذر روی توری‌های فلزی در ظروف مخصوص و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Delouche & Baskin, 1973). سپس بذرهای زوال یافته در آب مقطر با زمان‌های صفر (عدم پرایمینگ)، ۴، ۸ و ۱۲ ساعت قرار گرفتند. به دنبال آن بذر با به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. سپس نیمی از بذر با جهت آزمون هدایت الکتریکی و نیمی دیگر برای آزمون جوانه‌زنی استاندارد استفاده شدند. معیار جوانه‌زنی بذر با خروج دو میلی‌متر از ریشه‌چه در نظر گرفته شد (ISTA, 2007) در پایان آزمایش طول گیاهچه اندازه‌گیری شد و نمونه‌گیری به منظور تعیین پارامترهای بیوشیمیایی مورد نظر صورت گرفت. درصد جوانه‌زنی نهایی ( final germination percentage) از رابطه (۱) محاسبه شد (Yan, 2015):

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

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش

N: تعداد کل بذر با

صورت واحد آنزيم بر ميلي گرم پروتئين گزارش گردید  
(Nakano & Asada, 1981).

طرح آزمایشی و تجزیه‌های آماری: آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام و از تبدیل آرک-سینوس (arcsin) جهت نرمال کردن داده‌های درصد جوانه‌زنی استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS, 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

#### درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر پرایمینگ بذره‌های زوال یافته با آب مقطر بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها حکایت از افزایش درصد جوانه‌زنی همزمان با افزایش مدت زمان پرایمینگ داشت (جدول ۲). بیشترین درصد جوانه‌زنی به بذره‌های پرایم شده در زمان ۱۲ ساعت تعلق داشت که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (جدول ۲). کمترین درصد جوانه‌زنی نیز به بذره‌های پرایم نشده تعلق داشت. کاهش کیفیت فیزیوبیوژیک و قوه نامیه از علائم زوال بذر محسوب می‌شود (Rouhi *et al.*, 2021). از آنجا که در جریان پرایمینگ بذر، فرآیندهای ترمیمی به وقوع پیوسته و می‌توانند بخشی از آسیب‌های وارد شده را کاهش دهند، افزایش درصد جوانه‌زنی بذره‌های زوال یافته در نتیجه هیدروپرایمینگ می‌تواند ناشی از این مسأله باشد. در این راستا یان (Yan, 2015) افزایش درصد جوانه‌زنی بذره‌های زوال یافته کلم

وزن بذر (g) / هدایت الکتریکی آب مقطر ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) - هدایت الکتریکی محلول بذر ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) = هدایت الکتریکی ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ): (رابطه ۵)

اندازه‌گیری قندهای محلول: قندهای محلول با روش آنترن (Irigoyen *et al.*, 1992) اندازه‌گیری شد.

پروتئین‌های محلول: از روش بردفورد (Bradford, 1976) جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول استفاده شد.

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید: تعیین و اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید به عنوان شاخص آسیب به غشاء سلولی به روش کوال کانتی (Cavalcanti *et al.*, 2004) انجام شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان مصرف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر و به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد و به شکل واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (Cakmak & Horst, 1991). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر نیز با روش اسپکتروفتومتری به صورت واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Giannopolitis & Ries, 1977).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز مشابه کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس میزان اکسیداسیون آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری و به-

با توجه به معنی‌دار شدن اثر پرایمینگ بر سرعت جوانه‌زنی در سطح یک درصد (جدول ۱)، بالاترین سرعت جوانه‌زنی به ترتیب در زمان‌های ۱۲، ۸ و ۴ ساعت حاصل شد، به طوری که سرعت جوانه‌زنی به ترتیب ۵۳/۸، ۸۴/۶ و ۷/۷ درصد نسبت به عدم پرایمینگ افزایش یافت (جدول ۲). این در حالی بود که بین پرایمینگ به مدت ۴ ساعت و عدم پرایمینگ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). مطالعات نشان داده زوال بذر موجب کاهش معنی‌دار درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌گردد (Tabatabaei, 2013; Yan *et al.*, 2015; Fu *et al.*, 2015) در این خصوص رحمان و همکاران (Rehman *et al.*, 2015) کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیرشده ذرت (*Zea mays*) را ناشی از کاهش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز دانسته‌اند. از سوی دیگر پرایمینگ بذر امکان ترمیم قسمت‌های آسیب دیده در جریان زوال و سایر تنش‌های اکسیداتیو را فراهم کرده و از شدت آسیب‌های به وجود آمده تا حد امکان جلوگیری می‌کند (Varier *et al.*, 2010; Jisha *et al.*, 2013). ماتسوشیما و ساکاگامی (Matsushima & Sakagami, 2012) بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای برنج (*Oryza sativa*) در نتیجه هیدروپرایمینگ را ناشی از القای سنتز پروتئین‌های مرتبط با مسیر سیگنالی هورمون جیبرلین ذکر کرده‌اند. به نظر می‌رسد بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای پرایم شده به علت افزایش در سنتز هورمون جیبرلین باشد زیرا با افزایش محتوای جیبرلین، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و به تبع آن سرعت تجزیه پلی

(*Brassica rapa*) در نتیجه هیدروپرایمینگ را به علت انجام فرآیندهای ترمیمی در بذرهای پرایم شده گزارش کرد. همچنین شارما و همکاران (Sharma *et al.*, 2014) بیان داشته‌اند هیدروپرایمینگ در بذرهای بامیه (*Abelmoschus esculentus*) قادر است درصد جوانه‌زنی را به دلیل فعال‌سازی آنزیم‌های آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و تحریک بیوسنتز هورمون جیبرلین افزایش دهد.

### متوسط زمان جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثر هیدروپرایمینگ در سطح یک درصد بر این صفت معنی‌دار است (جدول ۱). بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی متعلق به بذرهای پرایم نشده (۷/۷۵) بود و پس از آن به ترتیب پرایمینگ در زمان‌های ۴ (به میزان ۷/۱۳)، ۸ (به میزان ۴/۸۶) و ۱۲ ساعت (به-میزان ۴/۲۲) قرار داشتند (جدول ۲). یکی از دلایل افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی در بذرهای زوال یافته، می‌تواند اختلال در جذب آب به دلیل آسیب به غشاء پلاسمایی باشد (Lopez *et al.*, 2016). از سوی دیگر مطالعات روی بذرهای پرایم شده نشان داده، جایگزینی سلول‌های آسیب دیده توسط سلول‌های جدید سبب ترمیم آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو ناشی از زوال می‌گردد (Jyoti & Malik, 2013). در این رابطه کامیتی و همکاران (Kamithi *et al.*, 2016) کاهش در مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای نخود (*Cicer arietinum*) را در نتیجه هیدروپرایمینگ گزارش کرده‌اند.

### سرعت جوانه‌زنی

بذرهای زوال یافته کلم را در نتیجه هیدروپرایمینگ گزارش کرده است.

### نشت الکترولیتی غشا

نتایج حاصل از تجزیه واریانس، معنی‌دار بودن اثر پرایمینگ را در سطح یک درصد بر روی نشت الکترولیتی نشان داد (جدول ۱). بیشترین میزان نشت الکترولیتی را بذرهای پرایم نشده از خود نشان دادند و در بین زمان‌های پرایمینگ، بیشترین میزان نشت الکترولیتی مربوط به ۴ ساعت بود که اختلاف معنی‌داری با عدم پرایم نداشت (جدول ۲). کمترین مقدار نشت الکترولیتی بذر متعلق به بذرهای پرایم شده به مدت ۱۲ ساعت بود که با مقادیر حاصل از سایر تیمارها و بذرهای پرایم نشده اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). نتایج نشان داد هیدروپرایمینگ می‌تواند صدمات وارده به غشاء سلول را که در نتیجه زوال ایجاد شده کاهش دهد و پیامد آن کاهش در نشت الکترولیتی بذر می‌باشد. این مساله ممکن است ناشی از جایگزینی سلول‌های آسیب دیده توسط سلول‌های جدید (Jyoti & Malik, 2013) و همچنین ارتقاء سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه باشد (Lopez *et al.*, 2016). در این خصوص یان (Yan, 2015) اذعان نموده است، با پیر شدن بذر کلم، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و تخریب اسیدهای نوکلئیک و غشاء سلولی افزایش می‌یابد اما هیدروپرایمینگ از طریق ارتقاء بیان ژن‌های ترمیم کننده و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اثرات منفی را کاهش می‌دهد. برخی از پژوهشگران اظهار داشته‌اند کاهش در پراکسیداسیون چربی‌های بذرهای

ساکاریدهایی نظیر نشاسته افزایش یافته که نتیجه آن تسریع در انتقال قندهای محلول به جنین در حال رشد می‌باشد. در این راستا سپهری و روحي (Sepehri & Rouhi, 2017) گزارش کرده‌اند، پیش‌تیمار بذرهای بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) سبب تسریع در فرآیند جوانه‌زنی این گیاه شده است.

### طول گیاهچه

بررسی داده‌های طول گیاهچه نشان داد اثر پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد هیدروپرایمینگ در زمان‌های ۴، ۸ و ۱۲ ساعت به ترتیب طول گیاهچه را نسبت به عدم پرایمینگ ۰/۰۲، ۴۰/۱ و ۹۰/۶ درصد افزایش دادند (جدول ۲). پرایمینگ بذرها به مدت ۴ ساعت، اگرچه طول گیاهچه بیشتری را در مقایسه با بذرهای پرایم نشده ایجاد کرد اما این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۲). در بذر برخی از گونه‌های گیاهی، آنزیم‌های پروتئولیتیک مانند تریپسین که در طول نمو بذر تولید می‌شوند، در جریان فرآیند جوانه زنی نقش مهمی دارند (Ashraf & Foolad, 2005; Matsushima & Sakagami, 2012). فعالیت چنین آنزیمی‌هایی که نقش تنظیم کننده در تحرک پروتئین‌ها در طول جوانه‌زنی دارند اغلب توسط مهار کننده‌های تریپسین ممانعت می‌شود. پرایمینگ بذر با کاهش در فعالیت این مهار کننده‌ها سبب تحریک جوانه‌زنی و همچنین طویل شدن سلول‌ها می‌گردد (Ashraf & Foolad, 2005). در این راستا یان (Yan, 2015) بهبود در رشد گیاهچه‌های حاصل از

جوانه‌زنی شد که این مساله همبستگی مثبت و معنی‌داری با قندهای محلول، مالتوز و لاکتوز داشته است.

### پروتئین‌های محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر پرایمینگ بذر بر پروتئین‌های محلول در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). هیدروپرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت بیشترین میزان پروتئین‌های محلول را داشت به طوری که اختلاف آن با سایر زمان‌ها معنی‌دار بود و در مقایسه با بذرهای پرایم نشده میزان پروتئین‌های محلول را ۸۷/۴ درصد افزایش داد (جدول ۲). پس از تیمار فوق، پرایمینگ در زمان‌های ۴ و ۸ ساعت مقدار پروتئین‌های محلول را نسبت به عدم پرایمینگ به ترتیب ۵۶ و ۷۰/۷ درصد افزایش دادند (جدول ۲). آسیب‌های غیر قابل بازگشت به ساختار پروتئین‌ها و دناتوره شدن آن‌ها در جریان فرآیند زوال، ناشی از حمله رادیکال‌های آزاد می‌باشد که این مساله کاهش در مقدار پروتئین‌ها را به دنبال دارد (Kibinza et al., 2011). پرایمینگ بذر با ترمیم و سنتز پروتئین‌های جدید می‌تواند شدت این خسارت‌ها را کاهش دهد (Varier et al., 2010). لوپز و همکاران (Lopez et al., 2016) گزارش کرده‌اند هیدروپرایمینگ سبب افزایش پروتئین‌های محلول در بذرهای زوال یافته ناترک (*Dodonaea viscosa*) شده است. آن‌ها علت این امر را افزایش در سنتز پروتئین‌ها و ممانعت از دناتوره شدن آن‌ها ذکر کرده‌اند.

پرایم شده و افزایش در محتوای توکوفرول آنها مانع از آسیب بیشتر به غشاء سلولی می‌گردد (Forti et al., 2021).

### قندهای محلول

با توجه به معنی‌دار شدن اثر پرایمینگ (جدول ۱)، بیشترین مقدار قندهای محلول در بذرهای پرایم شده و کمترین مقدار در بذرهای پرایم نشده به دست آمد (جدول ۲). در این میان پرایمینگ بذرها به مدت ۱۲ ساعت مقادیر بیشتری را نسبت به مدت ۴ ساعت و بذرهای پرایم نشده از خود نشان داد اما تفاوت معنی‌داری با مدت ۸ ساعت نداشت (جدول ۲). یکی از علائم زوال بذر کاهش انسجام غشای سلولی و کاهش در قابلیت نفوذپذیری انتخابی آن است (Jyoti & Malik, 2013). این پدیده احتمال نشت مواد از غشاء را افزایش می‌دهد که نشت کربوهیدرات‌های محلول نیز از جمله آن‌ها است (Fu et al., 2015). در فرآیند پرایمینگ، ذخایر کربوهیدرات موجود بذر، در نتیجه هیدرولیز نشاسته به کربوهیدرات‌های ساده تبدیل می‌شوند. این مؤلفه‌ها منبع انرژی بذر محسوب شده و در تامین انرژی مورد نیاز برای جوانه‌زنی نقش دارند (Matsushima & Sakagami, 2012). بنابراین، تأثیر پرایمینگ بر بهبود جوانه‌زنی بذر با انتقال قندهای محلول از اندام‌های ذخیره‌ای به بافت‌های جنینی در حال رشد کاملاً مرتبط است. در این راستا سلّام (Sallam, 1999) نشان داده هیدروپرایمینگ بذرهای باقلا (*Vicia faba*) موجب بهبود درصد و سرعت



جدول ۱- تجزيه واريانس صفات جوانه زني بذرهاي زوال يافته گندم

Table 1- The ANOVA of germination characteristics of deteriorated wheat seeds

		میانگین مربعات Mean Squares										
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	FGP	MGT	GR	SL	EL	SS	SP	MDA	CAT	SOD	APX
پرایمینگ Priming	3	428.88**	8.84**	0.012**	13.79**	26.10**	87.44**	12.30**	305.37**	0.004**	32.27**	0.01**
خطا Error	8	8.88	0.031	0.00005	0.096	0.47	6.79	0.10	1.191	0.00003	0.457	0.00004
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	4.79	3.60	3.24	4.84	2.83	10.24	3.83	3.12	2.23	2.76	1.80

ns, \*\*, \* به ترتیب، معنی دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و بدون اختلاف معنی دار

درصد جوانه زنی، GP: متوسط زمان جوانه زنی، MGT: سرعت جوانه زنی، GR: طول گیاهچه، SL: نشت الکترولیتی، EL: قندهای محلول، SS: پروتئین های محلول، SP: مالون دی آلدئید، MDA: کاتالاز، CAT:

سوپراکسید دیسموتاز، SOD: آسکورات پراکسیداز، APX:

ns, \*\*, \* non-significant and significant of 1 and 5 percent of probability, respectively.

S.O.V: Source of Variation, df: degree of freedom, CV: Coefficient of Variation, FGP: Final Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, GR: Germination Rate, SL: Seedling Length, EL: Electrolyte leakage, SS: Soluble sugars, SP: Soluble Proteins, MDA: Malondialdehyde content, CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase

## جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بذر بر خصوصیات بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته گندم

Table 2- Mean comparison of seed priming effect on biochemical characteristics of deteriorated wheat conditions

Priming Periods (hours)	درصد جوانه زنی FGP (%)	متوسط زمان جوانه زنی MGT (day)	سرعت جوانه زنی GR (1/day)	طول گیاهچه SL (cm)	نشست الکترولیتی EL( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	قندهای محلول SS( $\text{mg}\cdot[\text{g}\text{dwt}]^{-1}$ )	پروتئین های محلول SP ( $\text{mg}\cdot[\text{g}\text{fw}]^{-1}$ )	محتوای مالون دی‌آلدهید MDA( $\text{nmol}\cdot[\text{g}\text{fw}]^{-1}$ )	فعالیت کاتالاز CAT (Units $[\text{mgpr}]^{-1}$ )	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD(Units $[\text{mgpr}]^{-1}$ )	فعالیت آسکوربات پراکسیداز APX(Units $[\text{mgpr}]^{-1}$ )
0	48.00 <sup>d</sup>	7.75 <sup>a</sup>	0.13 <sup>c</sup>	4.78 <sup>c</sup>	12.31 <sup>a</sup>	18.37 <sup>c</sup>	5.39 <sup>d</sup>	46.32 <sup>a</sup>	0.217 <sup>d</sup>	20.22 <sup>c</sup>	0.287 <sup>c</sup>
4	55.67 <sup>c</sup>	7.13 <sup>b</sup>	0.14 <sup>c</sup>	4.79 <sup>c</sup>	11.89 <sup>a</sup>	57.20 <sup>b</sup>	8.41 <sup>c</sup>	39.42 <sup>b</sup>	0.244 <sup>c</sup>	23.42 <sup>b</sup>	0.397 <sup>b</sup>
8	63.57 <sup>b</sup>	4.86 <sup>c</sup>	0.20 <sup>b</sup>	6.70 <sup>b</sup>	9.39 <sup>b</sup>	74.01 <sup>a</sup>	9.20 <sup>b</sup>	31.09 <sup>c</sup>	0.276 <sup>b</sup>	26.67 <sup>a</sup>	0.403 <sup>ab</sup>
12	76.00 <sup>a</sup>	4.22 <sup>d</sup>	0.24 <sup>a</sup>	9.11 <sup>a</sup>	6.19 <sup>c</sup>	75.65 <sup>a</sup>	10.09 <sup>a</sup>	23.07 <sup>d</sup>	0.302 <sup>a</sup>	27.35 <sup>a</sup>	0.416 <sup>a</sup>

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند

In each column means followed by the same letter are not significantly different at the  $P < 0.05$  level of probability.

FGP : Final Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, GR: Germination Rate, SL: Seedling Length, EC: Electrical leakage, SS: Soluble Sugars, SP: Soluble Proteins, MDA: Malondialdehyde content, CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase

**محتوای مالون دی آلدھيد**

اثر پرايمنيگ بر محتوای مالون دی آلدھيد در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). بیشترین محتوای مالون دی آلدھيد به بذور پرايم نشده اختصاص داشت (۴۶/۳۲) و کمترین آن به بذور پرايم شده به مدت ۱۲ ساعت تعلق داشت (۲۳/۰۷) که اختلاف آن با ساير تیمارها معنی دار بود (جدول ۲). زوال بذر به طور طبیعی منجر به تولید مقادير زیادی مالون دی آلدھيد می شود که خود بيانگر آسیب به ساختارهایی نظير غشاء سلولی است (Fu et al., 2015). يان (Yan, 2015) در پژوهشی نشان داد زوال بذر محتوای مالون دی آلدھيد در کلم را به شدت افزایش داده و این مساله با کاهش نفوذپذیری غشاء همراه بوده است. این پژوهشگر همچنين بيان داشته هيدروپرايمنيگ با افزایش در سطوح آنزيمهای آنتی اکسیدانی موجب کاهش در محتوای مالون دی آلدھيد می گردد.

**کاتالاز**

با توجه به معنی دار شدن اثر پرايمنيگ (جدول ۱)، مقایسه میانگین داده های آنزيم کاتالاز نشان داد که فعالیت این آنزيم در تمام تیمارها بیشتر از عدم پيش تیمار بود (جدول ۲). به طوری که پيش تیمار با آب در زمان های ۴، ۸ و ۱۲ ساعت فعالیت کاتالاز را به ترتیب ۱۲/۴، ۲۷/۲ و ۳۹/۲ درصد نسبت به بذرهاي پيش تیمار نشده افزایش داد (جدول ۲). بررسی ها نشان داده پيش تیمار بذر، رونویسی و بیان ژن های کدکننده کاتالاز را القا می کند (Kibinza et al., 2011). سنتز کاتالاز با ترميم ساختارهای سلولی و آزاد شدن اکسیژن در نتیجه تجزيه

پراکسید هیدروژن همراه است که این مساله سبب بهبود فعالیت میتوکندری ها و به تبع آن بهبود سرعت تنفس و افزایش سنتز ATP خواهد شد (Kibinza et al., 2011) چيو و همکاران (Chiu et al., 1995) دریافت اند هيدروپرايمنيگ بذرهاي هندوانه (*Citrullus lanatus*)، آسیب های بوجود آمده از زوال را از طريق افزایش فعالیت آنزيمهای آنتی اکسیدانی نظير کاتالاز کاهش داده است.

**سوپراکسید دیسموتاز**

براساس نتایج آزمایش، اثر پرايمنيگ در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز معنی دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت این آنزيم در زمان ۱۲ ساعت ثبت شد که با زمان ۸ ساعت تفاوت معنی داری نداشت اما اختلاف آن با زمان ۴ ساعت و بذرهاي پرايم نشده معنی دار بود (جدول ۲). یکی از اندامک های تولیدکننده آنزيم سوپراکسید دیسموتاز میتوکندری ها هستند که در جریان فرآیند زوال، مانند ساير اندامک های سلولی دچار آسیب می شوند، بنابراین کاهش در فعالیت این آنزيم بسیار محتمل است (Xia et al., 2015). اثر حفاظتی پرايمنيگ بذر روی بذرهاي تیمار شده می تواند ناشی از ترميم میتوکندری و القای فعالیت سوپراکسید دیسموتاز باشد. در این راستا کامیتی و همکاران (Kamithi et al., 2016) اذعان نموده اند هيدروپرايمنيگ با افزایش فعالیت آنزيمهای آنتی اکسیدانی نظير سوپراکسید دیسموتاز سبب کاهش اثرات منفی ناشی از تنش اکسیداتیو در گیاه نخود شده است. يان (Yan, 2015) نیز بهبود در فعالیت

سوپراکسید دیسموتاز و آسکورات پراکسیداز قادر است رونویسی و فعالیت این آنزیم‌ها را در بذرهای زوال یافته کلم افزایش دهد.

#### نتیجه‌گیری

در آزمایش حاضر اثرات منفی زوال بذر توسط پیش تیمار آب مقطر، با بهبود در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکورات پراکسیداز منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذر گردید. به طوری که پیش تیمار به مدت ۱۲ ساعت بیشترین اثر مثبت را نسبت به سایر زمان‌ها در خصوص بهبود پارامترهای جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته گندم رقم الوند داشت. به نظر می‌رسد بذرهای پرایم شده در زمان ۱۲ ساعت فرصت بیشتری جهت انجام فرآیندهای ترمیمی داشته‌اند و این مساله بهبود در پارامترهای مورد بررسی را به همراه داشت. بنابراین می‌توان گفت پیش تیمار آب مقطر با زمان مذکور جهت کاهش اثرات منفی ناشی از زوال برای بذرهای رقم الوند قابل توصیه است.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در نتیجه هیدروپرایمینگ بذرهای زوال یافته کلم گزارش کرده است.

#### آسکورات پراکسیداز

اثر پیش تیمار بذر بر فعالیت آسکورات پراکسیداز معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین فعالیت آسکورات پراکسیداز به ترتیب در زمان‌های ۱۲، ۸ و ۴ ساعت حاصل گردید که توانستند به ترتیب ۴۴/۹، ۴۰/۴ و ۳۸/۳ درصد فعالیت آسکورات پراکسیداز را نسبت به عدم پیش تیمار افزایش دهند (جدول ۲). هر چند که بین زمان‌های ۱۲ و ۸ ساعت از یک سو و بین زمان‌های ۸ و ۴ ساعت از سوی دیگر تفاوت معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲). واتاناکول پاکین و همکاران (Wattanakupakin et al., 2012) با بررسی اثر پیش تیمار آب مقطر بر فعالیت آسکورات پراکسیداز در بذرهای ذرت (*Zea mays*) اظهار داشته‌اند افزایش در القای mRNAs کدکننده این آنزیم منجر به افزایش فعالیت آن شده است. یان (Yan, 2015) گزارش کرده پیش تیمار آب مقطر با بهبود فعالیت آنزیم‌های

#### References

- Ahmad, K.U., Rahman, M.M., & Ali, M.R. 2014. Effect of hydropriming method on maize (*Zea mays*) seedling emergence. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 39(1), 143-150.
- Ashraf, M., & Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Advances in Agronomy*, 88, 223-271.
- Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Cakmak, I., & Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). *Plant Physiology*, 83, 463-468.
- Cavalcanti, F.R., Oliveira, J.T.A., Martins-Miranda, A.S., Viégas, R.A., & Silveira, J.A.G. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpeas leaves. *New Phytologist*, 163, 563-571.

- Chiu, K.Y., Wang, C.S., & Sung, J.M. 1995. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing and hydration of watermelon seeds differing in ploidy. *Plant Physiology*, 94, 441-446.
- Delouche, J.C., & Baskin, C.C. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, 1, 427-452.
- Ellis, R.A., & Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373-409.
- Food and Agriculture Organization of the United Nation. 2022. Statistics: FAOSTAT agriculture. from <http://fao.org/crop/statistics>.
- Forti, C., Ottobriano, V., Doria, E., Bassolino, L., Toppino, L., Rotino, G.L., Pagano, A., Macovei, A., & Balestrazzi, A. 2021. Hydropriming Applied on Fast Germinating *Solanum villosum* Miller Seeds: Impact on Pre-germinative Metabolism. *Frontier in Plant Science*, 12, 639336.
- Fu, Y.B., Ahmed, Z., & Diederichsen, A. 2015. Towards a better monitoring of seed ageing under ex situ seed conservation. *Conservation Physiology*, 3, 1-16.
- Ghasemi-Golezani, K., Japparpour-Bonyadi, Z., Shafagh-Kolvanagh, J., & Nikpour-Rashidabad, N. 2013. Effects of water stress and hydro-priming duration on field performance of lentil. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2, 922925.
- Giannopolitis, C., & Ries, S. 1977. Superoxid desmutase. I: Occurrence in higher plant, *Plant Physiology*, 59, 309-314.
- Hampton, J.G., & TeKrony, D.M. 1995. Handbook of vigour test methods. The international Seed Testing Association, Zurich.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., & Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 55-60.
- ISTA. 2007. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*, 13, 299-520.
- Jisha, K.C., Vijayakumari, K., & Puthur, J.T. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. [\*Acta Physiologiae Plantarum\*](#), 35, 1381-1396.
- Jyoti, & Malik, C.P. 2013. Seed deterioration: a review. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, 2(3), 374-385.
- Kamithi, K.D., Wachira, F. & Kibe, A.M. 2016. Effects of Different Priming Methods and Priming Durations on Enzyme Activities in Germinating Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *American Journal of Natural and Applied Science*, 1(1), 1-9.
- Kapoor, R., Arya, A., Siddiqui, M.A., Amir, A., & Kumar, H. 2010. Seed Deterioration in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under Accelerated Ageing. *Asian Journal of Plant Science*. 9(3), 158-162.
- Kheirabadi, F., Soltani, A., Galeshi, S., Soltani, E., & Nehbandani, A.R. 2017. [The effect of seed deterioration on the growth response of wheat under water logging stress](#). *Crop Production*, 9(2), 1-18. [In Persian]
- Kibinza, S., Bazin, J., Bailly, C., Farrant, J.M., Corbineau, F., & El-Marrouf Bouteau, H. 2011. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. *Plant Science*, 181, 309-315.
- Lopez, L.V.P., Rodríguez, A.R., Coronado, M.E.S., Hernández, P.E.M., & Segovia, A.O. 2016. Effects of hydropriming treatments on the invigoration of aged *Dodonaea viscosa* seeds and water-holding polymer on the improvement of seedling growth in a lava field. *Restoration Ecology*, 24(1), 61-70.
- Matsushima, K., & Sakagami, J. 2012. Effects of seed hydropriming on germination and seedling vigor during emergence of rice under different soil moisture conditions. *American Journal of Plant Science*, 4, 1584-1593.
- Nakano, Y., & Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
- Rehman, H., Iqbal, H., Basra, S.M.A., Afzal, I., Farooq, M., Wakeel, A., & Ning, W. 2015. Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(9), 1745-1754.

- Rouhi, H.R., & Sepehri, A. 2017. Effect of hydropriming on morphological and physiological performance of aged groundnut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. Iranian Journal of Field Crop Science, 48,43-53.
- Rouhi, H.R., Vafaei, M.H., Saman, M., & Abbasi Surki. A. 2021. Effect of Hydrogen Peroxide on Physiological Quality and Germination of Aged Pumpkin Seeds under Drought Stress Condition. Philippine Agricultural Scientist, 104(1), 90-99.
- Sallam, H.A. 1999. Effect of some seed-soaking treatments on growth and chemical components on faba bean plants under saline conditions. Annals of Agricultural Sciences, 44, 159–171.
- Sharma, A.D., Rathore, S.V.S., Srinivasan, K., & Tyagi, R.K. 2014. Comparison of various seed priming methods for seed germination, seedling vigour and fruit yield in okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). Scientia Horticulturae, 165, 75–81.
- Tabatabaei, S.A. 2013. The Effect of priming on germination and enzyme activity of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds after accelerated aging. Journal of Physiology and Biochemistry, 9 (4), 132-138.
- Varier, A., Vari, A.K., & Dadlani, M. 2010. The subcellular basis of seed priming. Current Science, 99(4), 450-456.
- Wattanakulpakin, P., Photchanachai, S., Ratanakhanokchai, K., Kyu, K.L., Ritthichai, P., & Miyagawa, S. 2012. Hydropriming effects on carbohydrate metabolism, antioxidant enzyme activity and seed vigor of maize (*Zea mays* L.). African Journal of Biotechnology, 11, 3537-3547.
- Xia, F., Wang, X., Li, M., & Mao, P. 2015. Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Physiology and Biochemistry, 94, 122-129.
- Yan, M. 2015. Hydropriming promotes germination of aged napa cabbage seeds. Seed Science and Technology, 43(2), 303-307.