Razi University

Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

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

Investigating the effect of priming with ascorbic acid on some germination and biochemical indices of deteriorated sweet corn seeds

Mohammad Hasan Vafaei[1] ✉ & Hossein Reza Rouhi[1]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: m.vafaei@basu.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Corn is one of the most important crops in the cereal family, and after wheat, it has the largest cultivated area in the world. Among the types of corn, sweet corn seeds are sensitive to storage conditions due to their low starch content and poor seed vigor. Therefore, it is essential to understand their physiological and biochemical behavior during storage to prolong their longevity and prevent the loss of vigor. On the other hand, seed deterioration is a natural phenomenon, resulting in seeds losing their viability and quality even under optimal storage conditions. This undesirable phenomenon causes more damage, especially in sensitive seeds such as sweet corn. Part of this damage is related to the decrease in the speed and percentage of seed germination, which leads to a decrease in plant density and failure to achieve the desired density in the field, resulting in decreased crop yield. This experiment evaluated and tested the ability of seed priming with ascorbic acid to improve damage caused by sweet corn seed deterioration.

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 Chase variety. Wheat seeds deteriorated by accelerated aging method for 72 hours at 43 °C. Then, the deteriorated seeds were primed at 25°C with 1, 1.5 ml of ascorbic acid and distilled water for 18 hours. The studied traits included germination percentage, mean germination time, germination rate, vigor index, malondialdehyde content, soluble sugars, soluble proteins, and superoxide dismutase enzyme activity.

Results: The results showed that vitamin priming of seeds with ascorbic acid improved the germination percentage, germination rate, vigor index, soluble sugars, soluble proteins, and activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase in deteriorated seeds. Among the examined traits, the mean germination time and malondialdehyde content of primed seeds decreased compared to non-primed ones. The concentrations of ascorbic acid used in mean germination time, germination rate, vigor index, and soluble sugars were not significantly different. However, it had a more favorable effect than hydropriming in improving the studied parameters of sweet corn seeds. While seed priming with a concentration of 1.5 mM ascorbic acid had the most significant effect on germination percentage, soluble proteins, malondialdehyde content, superoxide dismutase activity, and its difference with other priming treatments was significant. Even though seed priming with a concentration of 1.5 mM ascorbic acid had the greatest effect on the germination percentage, soluble proteins, malondialdehyde content, superoxide dismutase activity. However, its difference was significant from other priming treatments. It increased the percentage of germination, soluble proteins, and superoxide dismutase activity by 71, 85, and 44%, respectively, and decreased the content of malondialdehyde by 52.9%.

Conclusion: Based on the results from this experiment, it can be concluded that applying ascorbic acid, especially the concentration of 1.5 mM, as the best priming treatment is recommended to recover the lost quality of deteriorated sweet corn seeds and improve their germination characteristics.

Keywords: Germination Percentage, Germination Rate, Malondialdehyde Content.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 11 Oct 2023, **Revised:** 23 Oct 2023, **Accepted:** 25 Nov 2023, **Published online:** 22 Dec 2023

Cite this article: Vafaei, M. H. & Rouhi, H. R. (2023). Investigating the effect of priming with ascorbic acid on some germination and biochemical indices of deteriorated sweet corn seeds. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, *2*(4), 432-445. DOI: 10.22126/cbb.2024.10134.1064

© The Author(s).
10.22126/cbb.2024.10134.1064

Publisher: Razi University

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

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

بررسی اثر پرایمینگ با اسید آسکوربیک بر برخی شاخص های جوانه زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین

محمد حسن وفائی[۱] و حسین رضا روحی[۱]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

نویسنده مسئول. رایانامه: m.vafaei@basu.ac.ir

چکیده

مقدمه: ذرت از گیاهان مهم خانواده غلات محسوب شده و پس از گندم، بیشترین سطح زیر کشت را در جهان به خود اختصاص داده است. در بین انواع ذرت، بذرهای ذرت شیرین به دلیل محتوای نشاسته کم و بنیه ضعیف، به شرایط انبارداری حساس هستند. بنابراین، درک رفتار فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آن در طول نگهداری جهت افزایش طول عمر و جلوگیری از کاهش بنیه آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. از سوی دیگر، زوال بذر پدیده‌ای طبیعی است که در نتیجه آن، بذرها قوه نامیه و کیفیت خود را حتی در شرایط مطلوب نگهداری، از دست می‌دهند. این پدیده نامطلوب به ویژه در بذرهای حساس مانند ذرت شیرین آسیب و خسارت بیشتری وارد می‌کند. بخشی از این خسارت مربوط به کاهش سرعت و درصد سبز شدن بذرها بوده که منجر به کاهش تراکم بوته و عدم دستیابی به تراکم مطلوب مزرعه شده و در نتیجه عملکرد محصول کاهش می‌یابد. در این آزمایش اثرات پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک در بهبود خسارت ناشی از زوال بذر ذرت شیرین مورد ارزیابی و سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. بذر مورد استفاده جهت انجام آزمایش مربوط به رقم چِیس بود. بذرهای ذرت شیرین به روش پیری تسریع شده به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد زوال یافتند. سپس بذور زوال یافته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت پرایم شدند. صفات مورد بررسی شامل درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه، محتوای مالون دی‌آلدهید، محتوای قندهای محلول، محتوای پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ویتامین پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک موجب بهبود صفات درصدجوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه، محتوای قندهای محلول، محتوای پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز در بذرهای زوال یافته گردید. در بین صفات مورد بررسی، متوسط زمان جوانه‌زنی و محتوای مالون دی‌آلدهید بذرهای پرایم شده در مقایسه با بذرهای پرایم نشده کاهش یافت. غلظت‌های مورد استفاده اسید آسکوربیک در صفات متوسط زمان جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه و قندهای محلول تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند اما اثر مطلوبتری نسبت به هیدروپرایمینگ در خصوص بهبود پارامترهای مورد بررسی بذرهای ذرت شیرین داشت. این در حالی بود که پرایمینگ بذور با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بیشترین تاثیر را بر صفات درصد جوانه‌زنی، پروتئین‌های محلول، محتوای مالون دی‌آلدهید و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز داشت و اختلاف آن با سایر تیمارهای پرایمینگ، معنی‌دار بود؛ به‌طوری که مقادیر درصد جوانه‌زنی، پروتئین‌های محلول و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به عدم پرایم به ترتیب ۷۱، ۸۵ و ۴۴ درصد افزایش داد و محتوای مالون دی-آلدهید را نیز ۵۲/۹ درصد کاهش داد.

نتیجه‌گیری: بر مبنای نتایج به دست آمده از این آزمایش، می‌توان گفت کاربرد اسید آسکوربیک به‌ویژه غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به عنوان بهترین تیمار پرایمینگ، جهت بازیابی کیفیت از دست رفته بذرهای زوال یافته ذرت شیرین و بهبود خصوصیات جوانه‌زنی آن قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: درصدجوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، محتوای مالون دی‌آلدهید.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۹ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۸/۰۱ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۹/۰۴، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

استناد: وفائی ، م. ح. و روحی ، ح. ر. (۱۴۰۲). بررسی اثر پرایمینگ با اسید آسکوربیک بر برخی شاخص های جوانه زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۲ (۴)، ۴۳۲-۴۴۵. DOI: 10.22126/cbb.2024.10134.1064

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

CC BY NC

مقدمه

ذرت شیرین (*Zea mays* L. *Saccharata*) گونه‌ای تغییر یافته ژنتیکی از ذرت معمولی است که با ایجاد جهش در کروموزوم شماره چهار به وجود آمده است. این جهش باعث کاهش در پلی‌ساکاریدهای محلول در آندوسپرم به‌ویژه نشاسته می‌شود (Wang *et al.*, 2022). چنین ویژگی‌هایی قابلیت‌های حیاتی بذر را مختل نموده و موجب کاهش قابلیت انبارداری بذر می‌گردد. از سوی دیگر، پیری یا زوال بذر با نگهداری طولانی مدت حتی در شرایط نگهداری کنترل شده، رخ می‌دهد (Rouhi *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022). بذرهای زوال یافته قوه نامیه و بنیه خود را از دست داده و این مسأله موجب کاهش پتانسیل جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه و افزایش حساسیت به انواع تنش‌ها در زمان جوانه‌زنی می‌گردد (Kapoor *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2022). علاوه بر این، زوال بذرها به صورت تغییرات متابولیکی و سلولی برگشت‌ناپذیر مانند کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آسیب غشای پلاسمایی، کاهش ذخیره مواد غذایی و تخریب مواد ژنتیکی ظاهر می شود (Wang *et al.*, 2022). با این توضیحات، بالا بردن کارآیی بذر با استفاده از روش‌های مختلف ارتقاء دهنده کارآیی بذر می‌تواند راه رسیدن به استقرار بهتر و هدف نهایی که همانا افزایش عملکرد محصول است را تسهیل کند. از جمله روش‌های متداول اما کارآمد در این خصوص، تیمار کردن بذرها پیش از کاشت بوده که به پرایمینگ موسوم است. پرایمینگ بذر به عنوان روشی قابل قبول جهت ارتقاء کارآیی بذور اکثر گیاهان تحت تنش‌های اکسیداتیو در نقاط مختلف جهان محسوب می‌شود (Baig *et al.*, 2021). تحقیقات نشان داده کاربرد ویتامین‌های محلول در آب نظیر اسید آسکوربیک (ویتامین پرایمینگ) نه تنها موجب افزایش در مقدار پروتئین‌های اصلی گیاه می‌شود، بلکه سبب القای پروتئین‌های جدید، ترکیبات حفاظت کننده اسمزی و افزایش در محتوای کلروفیل نیز می‌گردد (Mazid *et al.*, 2011; Azooz *et al.*, 2013). در این راستا، بیگ و همکاران (Baig *et al.*, 2021) گزارش کردند که کاربرد اسید آسکوربیک به‌عنوان یک کاهنده تنش، توانست درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، طول گیاهچه و محتوای کلروفیل در سه رقم گندم (*Triticum aestivum*) را تحت تنش اکسیداتیو ناشی از شوری، افزایش دهد. آلوز و همکاران (Alvez *et al.*, 2021) نیز اذعان نمودند پرایمینگ بذرهای گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) با اسید آسکوربیک موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و کاهش در محتوای پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدهید در جریان تنش اکسیداتیو شده است. تغییرات بیوشیمیایی ناشی از پرایمینگ بذر با اسید آسکوربیک به ندرت در بذرهای

زوال یافته ذرت شیرین مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر این روش بر خصوصیات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان با استفاده از ذرت شیرین رقم چِیس (Chase) انجام شد. قوه نامیه بذرهای مورد آزمایش قبل از اعمال پیری تسریع‌شده، بر اساس آزمون جوانه‌زنی استاندارد، به روش بین کاغذ (Between paper) به‌مدت ۷روز در دمای ۲۵ 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 ۴۳ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی حدود ۱۰۰ درصد به‌مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند (Delouche & Baskin, 1973). سپس بذرهای زوال یافته در غلظت‌های صفر (هیدروپرایمینگ)، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار از اسید آسکوربیک (شرکت Merck آلمان با خلوص ۹۹ درصد) به‌مدت ۱۸ ساعت درون پتری دیش (با قطر ۱۵سانتی‌متر) قرار گرفتند. به‌دنبال آن بذرها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خشک شدند. لازم به ذکر است که بذرهای زوال یافته و پرایم نشده به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

سپس بذرها جهت آزمون جوانه‌زنی استاندارد به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد درون ژرمیناتور قرار گرفتند. معیار جوانه‌زنی بذرها خروج دو میلی‌متر از ریشه‌چه در نظر گرفته شد (ISTA, 2007). در پایان آزمایش، جهت محاسبه شاخص طولی بنیه، طول گیاهچه‌ها 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):

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

Ni: تعداد کل بذرهای جوانه‌زده در روز آخر شمارش

N : تعداد کل بذرها

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

$$MGT = \sum Dn/n$$ (رابطه ۲)

در رابطه فوق، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز Dاُم و D تعداد روزهای شمارش از آغاز جوانه‌زنی می‌باشد

سرعت جوانه‌زنی با استفاده رابطه (۳) محاسبه شد:

$$GR = 1/MGT$$ (رابطه ۳)

شاخص بنیه بذر (VI) نیز از رابطه (۴) محاسبه شد (ISTA, 2007):

$$VI = \left(\frac{FGP \times SL}{100}\right)$$ (رابطه ۴)

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی SL: طول گیاهچه (سانتی‌متر)

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

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

اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدهید: تعیین و اندازه-گیری محتوای مالون دی‌آلدهید به عنوان شاخص آسیب به غشاء سلولی به‌روش کاوال‌کانتی (Cavalcanti *et al*., 2004) انجام شد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش جیانوپولیتیس و رایس (Giannopolitis & Ries, 1977)اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ریبوفلاوین[1] (۱ میکرومولار)، متیونین[2] (۱۲ میلی مولار)، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (۰/۱ میلی مولار)، کربنات سدیم[3] (۵۰ میلی مولار)، نیتروبلوتترازولیوم[4] (۷۵ میکرومولار)، بافر فسفات ۲۵ میلی مولار (pH=6.8) و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. از آنجا که فعالیت این آنزیم به صورت فتومتریک بررسی گردید، کووت‌های حاوی نمونه زیر نور ۱۲۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اساس میزان توانایی آنزیم در ممانعت از احیای نوری[5] نیتروبلوتترازولیوم درطول موج ۵۶۰ نانومتر به‌صورت واحد آنزیم (یک واحد سوپراکسیددیسموتاز در ممانعت از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در دقیقه) بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

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

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد پرایمینگ بذرهای زوال یافته بر درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی به بذور پرایم شده با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار از اسید آسکوربیک اختصاص داشت (۷۷٪) که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارهای پرایمینگ و بذور پرایم نشده داشت (جدول ۲). درصد جوانه‌زنی حاصل از غلظت ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و هیدروپرایمینگ معنی‌دار نبود، اما تفاوت آن‌ها با بذور پرایم نشده معنی‌دار بود (جدول ۲). کمترین درصد جوانه‌زنی نیز به بذور پرایم نشده تعلق داشت (۴۵٪). اسید آسکوربیک از مهمترین آنتی اکسیدان‌های

---

[1] Riboflavin
[2] Methionine
[3] Sodium carbonate
[4] Nitrobluetetrazolium
[5] Photo reduction

غیرآنزیمی با وزن مولکولی پایین است که در فرآیندهای رشد و نموی گیاه نقش مهمی برعهده دارد (Wang *et al*., 2013; Rouhi *et al*., 2021). در تنش‌های اکسیداتیو این ترکیب قادر است به شکل مستقیم و غیرمستقیم ترکیبات سمی و مضر تولید شده در سطح سلول را سمیت‌زدایی کند (Wang *et al*., 2013; Azooz *et al*., 2013). در این خصوص دراگانیچ و لکیچ (Draganic & Lekic, 2012) اثر پیش‌تیمار اسید آسکوربیک را روی بذور زوال یافته آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند و بیان داشتند که درصد جوانه‌زنی بذور تیمار شده، افزایش معنی‌داری داشت. کاتا و همکاران (Kata *et al*., 2014) نیز اسید آسکوربیک را تیماری مؤثر در کاهش اثرات منفی تنش اکسیداتیو دانستند و بهبود جوانه‌زنی بذور برنج (*Oryza sativa*) را در نتیجه کاربرد آن گزارش کردند. افزایش درصد جوانه‌زنی در بذور گندم در نتیجه پرایمینگ با اسید آسکوربیک توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است (Baig *et al*., 2021).

متوسط زمان جوانه‌زنی

نتایج نشان داد که اثر پرایمینگ در سطح یک درصد بر این صفت معنی دار است (جدول ۱). بیشترین متوسط زمان جوانه‌زنی متعلق به بذور پرایم نشده (۷ روز) و سپس متعلق به هیدروپرایمینگ (۵/۲۵ روز) و بذور پرایم شده با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بود (جدول ۲). این در حالی بود که اختلاف بین غلظت‌های اسید آسکوربیک معنی‌دار نبود، اما تفاوت معنی‌داری با هیدروپرایمینگ و بذور پرایم نشده داشتند. افزایش در مدت زمان جوانه‌زنی، کاهش در یکنواختی سبزشدن و افزایش درصد گیاهچه‌های غیرطبیعی، از جمله علائم ظاهری زوال بذر محسوب می‌شود (Jyoti & Malik, 2013). پرایمینگ بذر امکان بازسازی و ترمیم بخش‌های آسیب دیده بذر را فراهم نموده که میزان موفقیت آن به نوع ترکیب مورد استفاده وابسته است (Jisha *et al*., 2013). اسید آسکوربیک به‌دلیل طبیعت آنتی-اکسیدانی خود، می‌تواند ترکیبی مثبت در جهت کاهش اثرات تنش‌های اکسیداتیو محسوب گردد. در این رابطه، روحی و همکاران (Rouhi *et al*., 2021) اسید آسکوربیک را تیماری مطمئن جهت افزایش تحمل به تنش‌های محیطی دانستند و اظهار داشتند حفظ انسجام غشاء تحت شرایط تنشی، از مهمترین وظایف اسید آسکوربیک است که سبب بهبود پارامترهای جوانه‌زنی می‌گردد. بیگ و همکاران (Baig *et al*., 2021) کاهش در مدت زمان جوانه‌زنی بذرهای گندم را در نتیجه پرایمینگ با اسید آسکوربیک تحت شرایط تنش اکسیداتیو گزارش کردند.

سرعت جوانه‌زنی

با توجه به معنی‌دار شدن اثر پرایمینگ بر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد (جدول ۱)،

مشخص گردید بالاترین سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و هیدروپرایمینگ حاصل گردید، به طوری‌که سرعت جوانه‌زنی به‌ترتیب ۱۰۷، ۸۳/۵ و ۳۷ درصد نسبت به عدم پرایم افزایش یافت (جدول ۲). این در حالی بود که بین غلظت‌های اسید آسکوربیک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). در پرایمینگ، بذر دو مرحله از مجموع سه مرحله جوانه‌زنی را طی نموده و ضمن فعال شدن آنزیم‌ها و مکانیسم‌های ترمیمی، امکان جوانه‌زنی سریع‌تر و یکنواخت‌تر با حداقل مصرف آب فراهم می‌گردد (Paparella *et al*., 2015). در این راستا روحی و همکاران (Rouhi *et al*., 2021) بهبود در سرعت جوانه‌زنی بذور علف بره (*Festuca ovina*) را در نتیجه پرایمینگ با اسید آسکوربیک تحت تنش خشکی گزارش کردند. افزایش در سرعت جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی و گندم به سبب پرایمینگ با اسید آسکوربیک توسط محققین دیگری نیز مشاهده شده است (Alvez *et al*., 2021; Baig *et al*., 2021).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین

Table 1- The ANOVA of germination characteristics of deteriorated sweet corn seeds

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares							
		FGP	MGT	GR	VI	SS	SP	MDA	SOD
پرایمینگ Priming	3	760.91**	9.72**	0.017**	16.80**	117. 83**	15.50**	516.28**	67.12**
خطا Error	12	9.41	0.64	0.0017	0.66	1.04	0.08	1.04	0.27
ضریب تغییرات (درصد) CV(%)	-	4.78	16.27	19.17	16.80	3.92	3.62	3.33	2.04

*,**,ns به ترتیب ، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و بدون اختلاف معنی‌دار

FGP: درصد نهایی جوانه‌زنی، MGT: متوسط زمان جوانه‌زنی، GR: سرعت جوانه‌زنی، VI: شاخص طولی بنیه، SS: قندهای محلول، SP: پروتئین‌های محلول، MDA: مالون دی‌آلدهید، SOD: سوپراکسیددیسموتاز

ns,** and *: non-significant and significant at 1 and 5% probability levels, 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, VI: Vigour Index, SS: Soluble sugars, SP: Soluble Proteins , MDA: Malondialdehyde content, SOD: Superoxide dismutase

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر پرایمینگ بذر بر خصوصیات بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین

Table 2– Mean comparison of seed priming effect on biochemical characteristics of deteriorated sweet corn seeds

تیمارهای پرایمینگ Priming Treatments	Traits							
	درصد جوانه زنی FGP (%)	متوسط زمان جوانه زنی MGT (day)	سرعت جوانه زنی GR (1/day)	شاخص طولی بنیه VI	قندهای محلول SS(mg.[gdw]$^{-1}$)	پروتئین های محلول SP (mg.[gfw]$^{-1}$)	محتوای مالون دی- آلدهید MDA(nmol.[gfw]$^{-1}$)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD(Units[mgpr]$^{-1}$)
عدم پرایم (nonprime)	45.00 ^{b}	7.00 ^{a}	0.140 ^{b}	2.50 ^{c}	18.26 ^{c}	5.29 ^{d}	47.24 ^{a}	20.79 ^{d}
هیدروپرایمینگ (Hydrpriming)	66.50 ^{b}	5.25 ^{b}	0.192 ^{b}	5.25 ^{b}	26.25 ^{b}	8.06^{c}	28.76 ^{b}	24.14 ^{c}
اسید آسکوربیک ۱ میلی‌مولار (Ascorbic acid 1mM)	70.00 ^{b}	4.00 ^{c}	0.257 ^{a}	6.50 ^{ab}	29.49 ^{a}	9.05 ^{b}	24.49 ^{c}	28.12 ^{b}
اسید آسکوربیک ۱/۵ میلی‌مولار (Ascorbic acid 1.5mM)	77.00 ^{a}	3.50 ^{c}	0.290 ^{a}	7.12 ^{a}	30.01 ^{a}	9.79 ^{a}	22.26 ^{d}	29.93 ^{a}

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.

FGP: Final Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, GR: Germination Rate, VI: Vigour Index, SS: Soluble Sugars, SP: Soluble Proteins, MDA: Malondialdehyde content, SOD: Superoxide dismutase

شاخص طولی بنیه

بررسی داده‌های شاخص طولی بنیه نشان داد اثر پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها مشخص کرد هیدروپرایمینگ و پرایمینگ با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی-مولار اسید آسکوربیک به ترتیب شاخص طولی بنیه را نسبت به عدم پرایمینگ، به میزان ۱/۱، ۱/۶ و ۱/۸۵ برابر افزایش دادند (جدول۲). بیشترین مقدار شاخص بنیه به غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک تعلق داشت که تفاوت آن با غلظت ۱ میلی‌مولار معنی‌دار نبود اما اختلاف معنی‌داری با هیدروپرایمینگ و بذور پرایم نشده داشت (جدول۲). این در حالی بود که اختلاف معنی‌داری بین غلظت ۱ میلی‌مولار از اسید آسکوربیک و هیدروپرایمینگ مشاهده نشد اما تفاوت آن‌ها با بذور پرایم نشده معنی‌دار بود. تحقیقات نشان داده است پرایمینگ بذر با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بهبود درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه، امکان بهبود شاخص طولی بنیه را تحت تنش-های اکسیداتیو فراهم می‌کند (Rouhi *et al*., 2021; Alvez *et al*., 2021; Baig *et al*., 2021). در این رابطه، بهایری و همکاران (Behairy *et al*., 2012) بهبود در شاخص طولی بنیه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) را در نتیجه پیش‌تیمار با اسید آسکوربیک تحت تنش اکسیداتیو گزارش کردند. احمد و همکاران (Ahmad *et al*., 2014) اظهار داشتند پیش‌تیمار اسید آسکوربیک به‌میزان ۲۰ میلی‌گرم در لیتر روی بذور ذرت (*Zea mays*) سبب بهبود شاخص بنیه بذر تحت تنش اکسیداتیو ناشی از سرما گردید. این محققین جذب بهتر آب، فعالیت بیشتر آنزیم‌های هیدرولیزکننده و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بذور پرایم شده را علت بهبود شاخص بنیه دانستند.

قندهای محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اگرچه پیش‌تیمار اسید آسکوربیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بیشترین میزان قندهای محلول را به خود اختصاص داد و تفاوت معنی-داری با هیدروپرایمینگ و شاهد داشت، اما اختلاف آن با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک معنی‌دار نبود (جدول ۲). هیدروپرایمینگ و پرایمینگ با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک نیز مقادیر بیشتری را نسبت به عدم پرایم نشان دادند (جدول ۲). مطالعات نشان داده اسید آسکوربیک با حفظ قابلیت نفوذپذیری غشاء، انسجام غشای پلاسمایی و ممانعت از آسیب رادیکال‌های آزاد به آن، مانع از نشت مواد به خارج می‌گردد (Wang *et al*., 2013). از آنجا که نشت کربوهیدرات‌های محلول به‌دلیل صدمه به غشاء در نتیجه زوال بذر به اثبات رسیده است (Wang *et al*., 2013; Rouhi *et al*., 2021) ، کاربرد اسید آسکوربیک امکان بهبود خسارات وارده به غشاء را میسر می‌سازد. در این راستا آزوز و همکاران (Azooz *et al*., 2013) بیان داشتند پرایمینگ بذرهای باقلا (*Vicia faba*) با اسید آسکوربیک موجب کاهش در نشت مواد از غشاء و مهمتر از همه، تجمع قندهای محلول، پروتئین-های آزاد و پرولین شد. حافظ و قریب (Hafez & Gharib, 2016) نیز افزایش در میزان کربوهیدرات‌های محلول

گندم (*Triticum aestivum*) را در نتیجه کاربرد اسید آسکوربیک گزارش کردند.

پروتئین‌های محلول

با توجه به معنی‌دار شدن اثر پرایمینگ (جدول ۱) بر این صفت، نتایج نشان داد بیشترین مقدار پروتئین‌های محلول در بذرهای پرایم شده و کمترین مقدار در بذرهای پرایم نشده به دست آمد (جدول ۲). در این میان، پیش‌تیمار اسید آسکوربیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار مقادیر بیشتری را نسبت به سایر تیمارها و بذور پرایم نشده از خود نشان داد (جدول ۲). پس از تیمار مذکور، پرایمنگ با غلظت ۱ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و هیدروپرایمینگ مقادیر بیشتری را نسبت به شاهد ثبت نمودند و اختلاف آن‌ها با یکدیگر و همچنین با بذور پرایم نشده معنی‌دار بود (جدول ۲). تحقیقات نشان داده کاربرد ویتامین‌های محلول در آب نظیر اسید آسکوربیک تحت شرایط تنش اکسیداتیو، نه تنها موجب افزایش در مقدار پروتئین‌های اصلی گیاه در مقایسه با عدم کاربرد آن می‌شود، بلکه سبب القای سنتز پروتئین‌های جدید و ترکیبات حفاظت کننده اسمزی نیز می‌گردد (Azooz *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013; Rouhi *et al.*, 2021). البسیونی و ساداک (El-Bassiouny & Sadak, 2015) نیز تولید پروتئین‌های جدید در کتان (*Linum usitatissimum*) را در نتیجه کاربرد اسید آسکوربیک تحت تنش اکسیداتیو ناشی از شوری گزارش کردند. این محققین تغییری در الگوی پروتئینی گیاهان تیمار نشده با اسید آسکوربیک مشاهده نکردند. حافظ و قریب (Hafez & Gharib, 2016) در آزمایشی که روی گندم و تحت تنش اکسیداتیو انجام دادند، اظهار داشتند افزایش در پروتئین‌های محلول در نتیجه کاربرد اسید آسکوربیک، مربوط به نقش بارز این ترکیب در برقراری تنظیم اسمزی می‌باشد.

محتوای مالون دی آلدهید

اثر پرایمینگ بر محتوای مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین محتوای مالون دی‌آلدهید به بذور پرایم نشده تعلق داشت (۴۷/۲۴) و کمترین آن به بذور پرایم شده با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک اختصاص داشت (۲۲/۲۶) که اختلاف آن با سایر تیمارها و بذور پرایم نشده معنی‌دار بود (جدول ۲). هیدروپراینگ و پرایمینگ با غلظت ۱ میلی‌مولار از اسید آسکوربیک و هیدروپرایمینگ نیز پس از غلظت ۱/۵ میلی‌مولار در رتبه‌های دوم و سوم قرار داشتند و تفاوت آن‌ها با مقدار به دست آمده از بذور پرایم نشده معنی‌دار بود. مطالعات مختلفی به نقش اسید آسکوربیک در کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و ارتقاء دهنده سیستم دفاع آنزیمی در گیاهان اشاره کرده‌اند (Azooz *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2013; Rouhi *et al.*, 2021). در این رابطه آلوز و همکاران (Alvez *et al.*, 2021) کاهش در پراکسیداسیون چربی‌ها را درنتیجه پرایمینگ با اسید آسکوربیک گزارش کرده و اذعان نمودند ارتقاء سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در بذور پرایم شده سبب کاهش محتوای مالون دی‌آلدهید و افزایش تحمل به تنش اکسیداتیو می‌گردد. مزید و همکاران (Mazid *et al.*,

2011) نیز اظهار داشتند اسید آسکوربیک به‌صورت مستقیم قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و اکسیژن منفرد است و با این‌کار از شدت صدمات وارده به ساختار غشاء و پراکسیداسیون چربی‌ها ممانعت به‌عمل می‌آورد. آن‌ها همچنین اسید آسکوربیک را به‌عنوان کوفاکتور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی معرفی کردند که قادر به افزایش کارآیی و فعالیت آنزیم‌ها است (Mazid *et al*., 2011).

سوپراکسید دیسموتاز

براساس نتایج آزمایش، اثر پرایمینگ در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ثبت شد که با سایر تیمارهای پرایمینگ و شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). پژوهش‌های صورت گرفته بیانگر نقش کلیدی اسید آسکوربیک در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون است که گیاه را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (Azooz *et al*., 2013; Mazid *et al*., 2013). همچنین بهبود در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در نتیجه کاربرد اسید آسکوربیک در تحقیقات متعددی گزارش شده است (Azooz *et al*., 2013; Wang *et al*., 2013). در این خصوص آلوز و همکاران (Alvez *et al*., 2021) دریافتند کاربرد اسید آسکوربیک در بذور گوجه فرنگی تحت تنش اکسیداتیو ناشی از شوری توانست میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را نسبت به شاهد افزایش دهد. روحی و همکاران (Rouhi *et al*., 2021) نیز افزایش تحمل به خشکی در علف بره را در نتیجه کاربرد اسید آسکوربیک گزارش کرده و اظهار داشتند آسکوربیک به عنوان پیش‌ماده واکنش در چرخه‌های آنزیمی مشارکت می‌کند. آن‌ها همچنین به نقش آنتی اکسیدانی اسید آسکوربیک در زدودن رادیکال سوپراکسید در کنار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اشاره کردند.

نتیجه‌گیری

در آزمایش حاضر اثرات منفی زوال بذر توسط پرایمینگ، با بهبود در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز منجر به بهبود خصوصیات جوانه‌زنی بذر گردید؛ به‌طوری که پپرایمینگ با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک بیشترین اثر را نسبت به سایر تیمارها در خصوص بهبود پارامترهای جوانه‌زنی و بیوشیمیایی بذرهای زوال یافته ذرت شیرین داشت. بنابراین می‌توان گفت پرایمینگ با غلظت مذکور جهت کاهش اثرات منفی ناشی از زوال برای بذرهای ذرت شیرین قابل توصیه است.

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.

Alvez, R.D.C., Rossatto, D.R., da Silva, J.D.S., Checchio M.V., Oliveira, K.R.D., Oliveira, F.D.A., Queiroz, F.D., da Cruz, M.C.P., & Gratao P.L. 2021. Seed priming with ascorbic

acid enhances salt tolerance in micro-tom tomato plants by modifying the antioxidant defense system components. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 31, 101927.

Azooz, M.M., Alzahrani, A.M., & Youssef, M.M. 2013. The potential role of seed priming with ascorbic acid and nicotinamide and their interactions to enhance salt tolerance in broad bean (*Vicia faba L.*). Australian Journal of Crop Science, 7, 2091-2100.

Baig, Z., Khan, N., Sahar, S., Sattar, S., & Zehra R. 2021. Effects of seed priming with ascorbic acid to mitigate salinity stress on three wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Acta Ecologica Sinica, 41(5), 491-498.

Behairy, R.T., El-Danasoury, M., & Craker, L. 2012. Impact of ascorbic acid on seed germination, seedling growth, and enzyme activity of salt-stressed Fenugreek. Journal of Medicinal and Active Plants, 1(3), 106-113.

Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Analytical Biochemistry, 72, 248-254.

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.

Delouche, J.C., & Baskin, C.C. 1973. Accelerated ageing technique for predicting relative storability of seed lots. Seed Science and Technology, 1, 427-452.

Draganic, I., & Lekic, S. 2012. Seed priming with antioxidants improves sunflower seed germination and seedling growth unfavorable germination conditions.Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 36, 421.428.

El-Bassiouny, H.M.S., & Sadak, M.S. 2015. Impact of foliar application of ascorbic acid and alpha-tocopherol on antioxidant activity and some biochemical aspects of flax cultivars under salinity stress. Acta Biologica Colombiana, 20, 209-222.

Ellis, R.A., & Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9, 373–409.

Giannopolitis, C., & Ries, S. 1977. Superoxid desmutase. I: Occurence in higher plant, Plant Physiology, 59, 309–314.

Hafez, E.M., & Gharib, H.S. 2016. Effect of exogenous application of ascorbic acid on physiological and biochemical characteristics of wheat under water stress. Internationa Journal of Plant Production, 10, 579-596.

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.

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.

Kata, L.P., Bhaskaran, M., & Umarani. R. 2014. Influence of priming treatments on stress tolerance during seed germination of rice. International Journal of Agriculture Environment and Biotechnology, 7, 225-32.

Mazid, M., Khan, T.A., Khan, Z.H., Quddusi, S., & Mohammad, F. 2011. Occurrence, biosynthesis and potentialities of ascorbic acid in plants. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, 1, 167-184.

Paparella, S., Arau, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D. & Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. Plant Cell Reproduction, 34, 1281–1293.

Rouhi, H.R., Vafaei, M.H., Saman, M., & Shahbodaghloo, A.R. 2021. Study of ascorbic acid priming on germination and biochemical indexes of sheep fescue (*Festuca ovina*) seeds under drought stress. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 10(1), 29-42.

Wang, J., Zhang, Z., & Huang, R. 2013. Regulation of ascorbic acid synthesis in plants. Plant Signal Behaviour, 8, 1559-2324.

Wang, B., Yang, R., Ji, Z., Zhang, H., Zheng, W., Zhang, H., & Feng, F. 2022. Evaluation of biochemical and physiological changes in sweet corn seeds under natural aging and artificial accelerated aging. Agronomy, 12, 1028.

Yan, M. 2015. Hydropriming promotes germination of aged napa cabbage seeds. Seed Science and Technology, 43(2), 303-307.