Iranian Journal of Seed Research, 2024, 10(2): 99-117

Research Article

The effect of hormonal priming with cytokinin on deteriorated Nigella (*Nigella sativa*) seeds

Zeinab Savaedi[1], Abdoul Mehdi Bakhshandeh[2*], Sayed Ataollah Siadat[2], Amin Lotfi Jalal Abadi[3], Sayed Amir Moosavi[4]

Extended abstract

Introduction: Deterioration reduces the quality of seeds. Oilseeds like Nigella are highly susceptible to seed aging. Seed priming enhances the quality of deteriorated seeds by improving germination indices and increasing the activity of antioxidant enzymes. This research aimed to investigate the extent of damage caused by accelerated aging treatment on the germination characteristics and antioxidant enzyme activity of Nigella seeds and the possibility of mitigating the adverse effects of aging through hormonal priming with cytokinin.

Materials and methods: This research was carried out in the form of a completely random basic design with four replications in the seed technology laboratory of Khuzestan University of Agricultural Sciences and Natural Resources in 2017. The treatments included hormonal priming with cytokinin at five levels (0 (control), 10, 20, 40, and 80 m/l) for two durations (12 and 24 hours), and aging under 100% relative humidity and a temperature of 45 °C at five levels (no aging, 24, 48, 72, and 96 h).

Results: The analysis of variance results indicated that germination indices were only influenced by main and two-way effects at the 5% and 1% probability levels, while the three-way interactions, including aging, hormone concentration, and priming duration, were significant for plant growth and longitudinal and weight indices at the 1% probability level. Furthermore, it was evident that the priming treatment mitigated the negative effects of aging, with the concentration of 10 milligrams per liter of cytokinin for a duration of 12 h having the most significant impact among the hormone concentrations used on the measured traits. The highest germination percentage (88%) and the lowest germination percentage (63.33%) were observed at concentrations of 10 and 80 mg/l, respectively. The use of cytokinin at optimal concentration improved catalase activity and protein levels. The results showed that in the control conditions, the activity of the catalase enzyme was 0.76 units per mg of protein and the amount of protein was 0.51 mg/g, which reached 0.97 units per mg of protein and 0.79 mg/g with seed priming.

Conclusion: Based on the results obtained from this research, aging led to a reduction in germination indices, the activity of antioxidant enzymes, and seed protein content. The best treatment applied was cytokinin hormone priming for aged Nigella seeds at a concentration of 10 mg/l for 12 h. According to the results, the application of cytokinin at its optimal concentration (10 mg/l) improved the catalase enzyme activity and protein content. Therefore, it can be suggested that hormonal priming with cytokinin helps mitigate the adverse effects of aging in Nigella plants.

Keywords: Aging, Antioxidant Enzymes, Germination, Nigella, Seed Priming

Highlights:

1- The impact of hormonal priming with cytokinin at concentrations of 10, 20, 40, and 80 mg/L on aged Nigella seeds was investigated.
2- The use of a concentration of 10 mg/l of cytokinin hormone for 12 hours was introduced as the best treatment.
3- Cytokinin was introduced as a significant hormone that enhances the activity of antioxidant enzymes and physiological traits in aged Nigella seeds.

[1]Graduate of a Masters, Seed Science and Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
[2]Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.
[4]Assistant Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Ahvaz, Iran.

*Corresponding author, E-mail: amehdibakhshandeh@gmail.com

Received: 23.12.2023; Revised: 1.3.2024;
Accepted: 9.3.2024; Online Published: 17.3.2024

DOR:

DOI: 10.61186/yujs.10.2.99

ISSN: 2383-1480 (On-Line); 2383-1251 (Print)

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

پژوهش‌های بذر ایران/ سال دهم/ شماره دوم/ ۱۴۰۲/ صفحات: ۱۱۷-۹۹

مقاله پژوهشی

اثر پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین بر بذرهای زوال یافته سیاهدانه (*Nigella sativa*)

زینب سواعدی[۱]، عبدالمهدی بخشنده[۲*]، سید عطاءاله سیادت[۲]، امین لطفی جلال آبادی[۳]، سید امیر موسوی[۴]

چکیده مبسوط

مقدمه: زوال باعث کاهش کیفیت بذر می‌شود. بذرهای روغنی نظیر سیاهدانه بسیار مستعد زوال هستند؛ پرایمینگ بذر از طریق بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، موجب بهبود کیفیت بذرهای زوال یافته می‌شود. این پژوهش با هدف بررسی شدت خسارت تیمار زوال تسریع شده بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذرهای سیاهدانه و امکان کاهش اثرات نامطلوب زوال با استفاده از پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین، اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارها شامل: پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین در پنج سطح (۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت)، و زوال در رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و دمای ۴۵ درجه سلسیوس در پنج سطح (عدم زوال، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بود.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شاخص‌های جوانه‌زنی تنها تحت تأثیر اثرهای اصلی و دوگانه در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد قرار گرفت درحالی که که برهم‌کنش سه‌گانه زوال، غلظت هورمون و زمان پرایمینگ برای شاخص‌های رشد گیاهچه و شاخص‌های طولی و وزنی بنیه در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین مشخص گردید که تیمار پرایمینگ سبب کاهش تأثیر منفی زوال شد به‌طوری که در بین غلظت‌های مورد استفاده از هورمون سیتوکینین، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت زمان ۱۲ ساعت بیش‌ترین تأثیر را بر صفات اندازه‌گیری شده داشت. بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۸۸ درصد) و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی (۶۳ درصد) به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. کاربرد سیتوکینین در غلظت بهینه موجب بهبود فعالیت کاتالاز و میزان پروتئین شد. نتایج نشان داد در شرایط شاهد فعالیت آنزیم کاتالاز ۰/۷۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین و میزان پروتئین ۰/۵۱ میلی‌گرم در گرم بود که با پرایمینگ بذرها مقدار آن به ۰/۹۷ واحد در میلی‌گرم پروتئین و ۰/۷۹ میلی‌گرم در گرم رسید.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، زوال موجب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین بذر شد. بهترین تیمار اعمال شده از هورمون سیتوکینین برای پرایمینگ بذر زوال یافته سیاهدانه با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲ ساعت بود. با توجه به نتایج حاصله، کاربرد سیتوکینین در غلظت بهینه خود (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پروتئین شد. بنابراین می‌توان پیشنهاد نمود که کاربرد پرایمینگ هورمونی با سیتوکنین باعث کاهش اثرات نامطلوب زوال در گیاه سیاهدانه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرایمینگ بذر، جوانه‌زنی، زوال، سیاهدانه

جنبه‌های نوآوری:

۱- تاثیر پرایمینگ هورمونی با سیتوکنین در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بر بذرهای زوال یافته سیاهدانه بررسی شد.

۲- استفاده از غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون سیتوکنین به مدت ۱۲ ساعت، به‌عنوان بهترین تیمار معرفی گردید.

۳- سیتوکنین به‌عنوان یک هورمون مهم برای بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و صفات فیزیولوژیک در بذرهای زوال یافته سیاهدانه معرفی شد.

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، علوم و تکنولوژی بذر ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

[۲] استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

[۳] دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

[۴] استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران.

[*] رایانامه نویسنده مسئول: amehdibakhshandeh@gmail.com

DOR:

DOI: 10.61186/yujs.10.2.99

شاپا: ۱۴۸۰-۲۳۸۳ (برخط)؛۱۲۵۱-۲۳۸۳ (چاپی)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۶؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۹؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷

مقدمه

از بذر گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) برای درمان گروه زیادی از بیماری‌ها مانند آسم، سردرد، عفونت، کمردرد، فشار خون، مشکلات گوارشی (ال-راویس[۱]، ۲۰۰۲) و اگزمای پوستی استفاده می‌شود (جورجیا[۲]، ۲۰۰۳).

انبارداری باعث تفاوت معنی‌داری در جوانه‌زنی بذرها و سبز شدن گیاهان می‌شود (مارشال و لویس[۳]، ۲۰۰۴). از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر کیفیت بذرها طی انبارداری می‌توان به دما، رطوبت نسبی محیط و مدت زمان انبارداری اشاره کرد (کریشنان[۴] و همکاران ۲۰۰۳). ظرفیت جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی تحت‌تأثیر زوال قرار می‌گیرد، در نتیجه کیفیت بذر نیز کاهش می‌یابد (مکدونالد[۵] و همکاران ۲۰۰۴؛ باسرا[۶] و همکاران، ۲۰۰۳). گونه‌های فعال اکسیژن که در زمان خشک بودن بذر تولید شده‌اند، با جوانه‌زنی بذر آزاد می‌شوند (بیلی[۷]، ۲۰۰۴). غیرفعال شدن آنزیم‌ها، آسیب به غشاهای سلولی، تخریب اسیدهای نوکلئیک و پراکسیداسیون چربی‌ها ازجمله اثرات نامطلوب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال هیدروکسیل، پراکسیدهیدروژن و رادیکال سوپراکسید) می‌باشد (بیلی، ۲۰۰۴). در اثر زوال میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن در بذر افزایش می‌یابد (بیلی، ۲۰۰۴). آنزیم کاتالاز (CAT) به‌طور مستقیم باعث تجزیه پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) می‌شود (جیانگ و هوانگ[۸]، ۲۰۰۱). آنزیم پراکسیداز (POD) با استفاده از مواد فنولیک به‌عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسیدهیدروژن می‌شود (ناکتور و فویر[۹]، ۱۹۹۸).

پرایمینگ بذر می‌تواند به سبز شدن بهینه بذر کمک نماید. به‌وسیله پرایمینگ مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر انجام می‌شود ولی خروج ریشه‌چه به‌علت کم بودن میزان آب جذب شده، صورت نمی‌گیرد (ناسکیمنتو و اراگو[۱۰]، ۲۰۰۴). پرایمینگ باعث سنتز DNA، RNA، تولید ATP، سنتز چندین آنزیم، بهبود غشای سیتوپلاسمی و انتقال مواد ذخیره‌ای می‌گردد (حسینی و کوچکی[۱۱]، ۲۰۰۷). سیادت[۱۲] و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که پیش‌تیمار سیتوکینین باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و شاخص بنیه در بذرهای زوال یافته گیاه خار مریم می‌شود. پرمون[۱۳] و همکاران (۲۰۱۴) اظهار داشتند که تیمار بذرهای پیرشده ماریتیغال با اسید سالیسیلیک و نیترات پتاسیم سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و بهبود شاخص-های جوانه‌زنی می‌گردد. این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش فرسودگی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذرهای سیاهدانه و بررسی اثر پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین بر کاهش خسارت زوال، اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل سه عاملی و در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارها شامل: پرایمینگ هورمونی با سیتوکنین در ۵ سطح (۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر) به مدت زمان (۱۲ و ۲۴ ساعت)، و زوال در رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و دمای ۴۵ درجه سلسیوس در ۵ سطح (عدم زوال، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) بود. بذرهای مورد استفاده در این پژوهش، متعلق به اکوتیپ سیاهدانه اصفهان بودند که از شرکت پاکان بذر اصفهان در سال ۱۳۹۶ خریداری شد که دارای قوه‌نامیه اولیه ۷۶ درصد و خواب بذر (آزمون تترازولیوم) ۱۶ درصد بود. برای به دست آوردن غلظت-های هورمون سیتوکینین (۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر)، ابتدا ۰/۰۳۲ گرم هورمون سیتوکنین را وزن کرده و جهت تسریع در حل شدن هورمون، چند قطره هیدروکسید پتاسیم ۰/۵ نرمال (KOH) به آن اضافه شد.

[1] Al Rowais
[2] Goreja
[3] Marshal and Lewis
[4] Krishnan
[5] Macdonald
[6] Basra
[7] Bailly
[8] Jiang and Huang
[9] Noctor and Foyer
[10] Nascimento and Aragao
[11] Hosseini and Kuchaki
[12] Siadat
[13] Parmoon

در نتیجه یک محلول ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان محلول مادری به‌دست آمد. برای تهیه غلظت‌های ۴۰، ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به ترتیب ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ سی‌سی از محلول مادری برداشته شد و با آب مقطر به حجم ۲۰۰ سی‌سی رسانده شد. بعد از سپری شدن زمان‌های زوال، بذرها به‌وسیله محلول‌های سیتوکینین پیش‌تیمار شدند. بذرهای سیاهدانه در درون ۲ لایه کاغذ صافی قرار داده شده و سپس محلول‌های سیتوکینین به آن‌ها افزوده شد (اینکار برای جلوگیری از هیدراته شدن بذرها در محلول‌های فاقد اکسیژن صورت گرفت). سپس نمونه‌ها به ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی به مدت زمان ۱۲ و ۲۴ ساعت منتقل شدند. بعد از خارج کردن بذرها از محیط پرایم، ۳ مرتبه با آب مقطر شستشه شدند. برای رسیدن به تعادل رطوبتی بذرها در دمای محیط آزمایشگاه (۲۵ درجه سلسیوس) خشک شد. سپس برای ارزیابی به روش جوانه‌زنی استاندارد (ایستا[1]، ۲۰۱۲)، ۵۰ عدد بذر را در داخل پتری‌های ۹ سانتی‌متری حاوی ۲ لایه کاغذ صافی و آب به‌میزان ۵ سی‌سی قرار داده و به ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. دمای مطلوب برای جوانه‌زنی بذر سیاهدانه ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (سواعدی[2] و همکاران، ۲۰۱۹). بذرهایی که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر و یا بیش‌تر بود، به‌عنوان بذرهای جوانه‌زده تلقی و شمارش شد (آگراوال[3]، ۲۰۰۳). از روابط ۱-۳ برای محاسبه درصد جوانه‌زنی (GP) (آیکیک[4] و همکاران، ۲۰۱۲)، سرعت جوانه‌زنی (GR) (ورما[5] و همکاران، ۲۰۰۵) و میانگین زمان جوانه‌زنی (MGT) (الیس و روبرتس[6]، ۱۹۸۱) استفاده شد. در این رابطه‌ها N_i: تعداد بذرهای جوانه زده در طی d روز، D_i: تعداد روزها از ابتدای جوانه زدن، N: تعداد کل بذرها، T_i: تعداد روزها پس از آزمایش

رابطه ۱:

$GP =$ (تعداد کل بذرها / تعداد بذرهای جوانه زده) × ۱۰۰

رابطه ۲:

$$GR = \Sigma \frac{N_i}{T_i}$$

رابطه ۳:

$$MGT = \frac{\sum N_i D_i}{N}$$

در روز آخر جوانه‌زنی، از هر پتری ۱۰ نمونه به‌طور تصادفی انتخاب و طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه آن‌ها با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد (آگراوال، ۲۰۰۳). همچنین در روز آخر جوانه‌زنی به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک گیاهچه، ریشه‌چه و ساقه‌چه، ۱۰ نمونه گیاهچه درون آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت از آون خارج و با استفاده از ترازوی اندازه‌گیری شد (آگراوال، ۲۰۰۳).

با استفاده از روش عبدالباکی و اندرسون[7] (۱۹۷۳)، شاخص‌های طولی و وزنی بنیه گیاهچه اندازه‌گیری شد.

رابطه ۴:

$$\text{شاخص طولی بنیه گیاهچه} = \frac{\text{میانگین طول گیاهچه}(cm) \times \text{جوانه‌زنی}(\%)}{100}$$

رابطه ۵:

$$\text{شاخص وزنی بنیه گیاهچه} = \frac{\text{میانگین وزن گیاهچه میلی گرم} \times \text{جوانه‌زنی}(\%)}{100}$$

برای بررسی تغییرات بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین) بذرها، بعد از اینکه بهترین غلظت سیتوکینین تعیین شد روند تغییرات بیوشیمیایی بذرها از سطوح صفر (شاهد) و بهترین غلظت سیتوکینین (۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون به مدت ۱۲ ساعت) اندازه‌گیری شد. با استفاده از روش ابی[8] (۱۹۸۳) فعالیت آنزیم کاتالاز در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی آب مقطر سترون به میزان ۵۰۰ میکرولیتر، آب‌اکسیژنه ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، و عصاره آنزیمی به میزان ۳۰ میکرولیتر بود. به‌عنوان شاهد اسپکتروفتومتر، از مخلوط واکنش بدون عصاره آنزیمی استفاده شد. با استفاده از روش همدا و کلین[9] (۱۹۹۰)

[1] ISTA
[2] Savaedi
[3] Agrawal
[4] Ikic
[5] Verma
[6] Ellis and Roberts
[7] Abdul-Baki and Anderson
[8] Aebi
[9] Hemeda and Kelin

فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) به میزان ۳۴ میکرولیتر، گایاکول ۱۰ میلی‌مولار محلول در آب دو بار تقطیر به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7) به میزان ۲۵۰ میکرولیتر، آب دو بار تقطیر استریل شده به میزان ۴۶۷ میکرولیتر و عصاره آنزیمی به میزان ۲۰ میکرولیتر بود. تعیین میزان جذب پروتئین در اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۹۰ نانومتر انجام شد. برای اندازه گیری میزان پروتئین، ۰/۵ گرم از نمونه پودر شده توسط ازت مایع را برداشته و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج به آن اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۱ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ سلسیوس سانتریفیوژ شد. در ادامه قسمت بالایی عصاره را جدا کرده و مجدداً به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر از بافر استخراج با همدیگر مخلوط شد، پس از انجام این مراحل ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های تهیه شده به آن‌ها اضافه شد (برادفورد[1]، ۱۹۹۵).

برای انجام آزمون نرمال بودن داده‌ها از نرم‌افزار Minitab استفاده شد. از نرم‌افزار SAS (9.4) برای انجام تجزیه واریانس، از نرم‌افزار SPSS (19) برای انجام تجزیه رگرسیون چند متغیر خطی و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال خطای ۵ درصد) برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

شاخص‌های جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که شاخص‌های جوانه‌زنی تنها تحت‌تأثیر اثرهای اصلی و دوگانه در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد قرار گرفت و هیچ‌گونه اثر معنی‌داری از برهم‌کنش زوال، غلظت هورمون و زمان پرایمینگ مشاهده نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که درصد جوانه‌زنی در طی پرایمینگ افزایش یافت. در بین غلظت‌های سیتوکینین، بیش‌ترین (۸۸ درصد) و کم‌ترین (۶۳/۳۳ درصد) درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب به غلظت‌های ۱۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر اختصاص یافت (شکل ۱-الف). زوال موجب کاهش جوانه‌زنی بذر شد و این روند کاهشی با افزایش سطح زوال، بیشتر شد. مشاهده شد که در ۷۲ و ۹۶ ساعت زوال، جوانه‌زنی بذر به‌ترتیب به ۲۰ و ۴۰ درصد کم‌تر از سطوح اول زوال رسید (شکل۱-ب).

همچنین مقایسه میانگین مربوط به اثر اصلی زمان پرایمینگ نشان داد با افزایش زمان پرایمینگ درصد جوانه‌زنی بذر کاهش و بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی از سطح اول پرایمینگ (۱۲ ساعت) مشاهده شد (شکل ۱، ج). مقایسه میانگین متوسط زمان جوانه‌زنی در اثر غلظت‌های مختلف سیتوکینین و زوال موجود در شکل (۲) نشان داد، زوال موجب افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی شده و کاربرد سیتوکینین در غلظت بهینه موجب کاهش تأثیر منفی زوال شده، ولی با افزایش غلظت سیتوکینین به بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، تشدید تأثیر زوال بر این صفت مشاهده شد. نتایج نشان داد، کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سیتوکینین دارای کم‌ترین متوسط زمان جوانه‌زنی در همه سطوح زوال بود، این درحالی بود که مصرف ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر این ماده به‌عنوان تیمار بهبود دهنده موجب افزایش شدید متوسط زمان جوانه‌زنی به بیش‌تر از آب مقطر شد (شکل ۲). مقایسه میانگین مربوط به اثر متقابل زمان در زوال نیز نشان داد در سطوح ملایم زوال (۲۴ و ۴۸ ساعت) بین زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و نمودار روند تغییرات آن‌ها منطبق برهم بود این درحالی بود که در بذرهای زوال نیافته با توجه به وجود خواب در آن‌ها و در سطوح شدید زوال (۹۶ ساعت) با توجه به خسارت شدید زوال، اختلاف بین این زمان‌ها بیش‌تر شد (شکل ۳).

روند تغییرات سرعت جوانه‌زنی نیز نشان داد کاربرد سیتوکینین موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای سیاهدانه شد. در بین غلظت‌های مورد استفاده، کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌عنوان غلظت مناسب این ماده شناخته شد و همواره در تمام سطوح زوال بالاترین سرعت جوانه‌زنی را به خود اختصاص داد. بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۰/۳۵ جوانه در روز) از ۱۰ میلی‌گرم

[1] Bradford

بر لیتر غلظت سیتوکینین و زمان فرسودگی ۴۸ ساعت به دست آمد (شکل ۴).

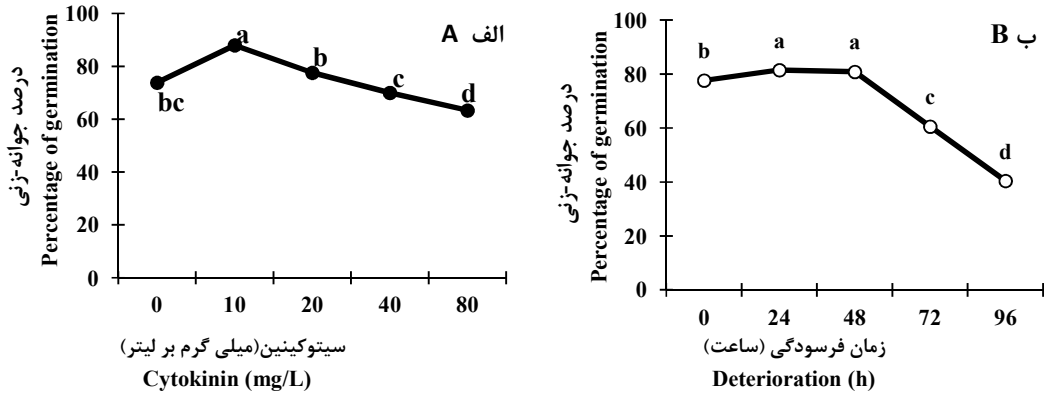
جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر غلظت هورمون و زمان پرایمینگ و زوال بذر بر شاخص‌های جوانه‌زنی سیاهدانه

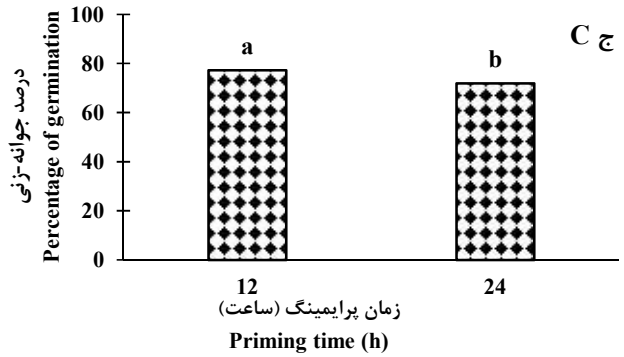
Table 1. Analysis of variance for hormone concentration, time of priming and seed deterioration on germination indices of *Nigella sativa*

S.O.V منابع تغییر	درجه آزادی df	Mean Square میانگین مربعات		
		درصد جوانه‌زنی Percentage of germination	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	سرعت جوانه‌زنی Germination rate
زوال (D) Deterioration	4	2229.70**	3.103**	0.0147**
غلظت هورمون (H) Hormone concentration	4	2528.90**	4.134**	0.0284**
زمان پرایمینگ (T) Time of priming	1	1066.66**	0.034ns	0.0003ns
هورمون×زوال H×D	16	64.24ns	0.172*	0.0013**
هورمون×زمان H×T	4	153.86ns	0.030ns	0.0002ns
زوال×زمان D×T	4	46.13ns	0.281*	0.0010ns
هورمون×زوال×زمان H×D×T	16	96.66ns	0.088ns	0.0004ns
خطای آزمایشی Error	149	108.69	0.088	0.0004
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	13.98	7.69	8.04

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

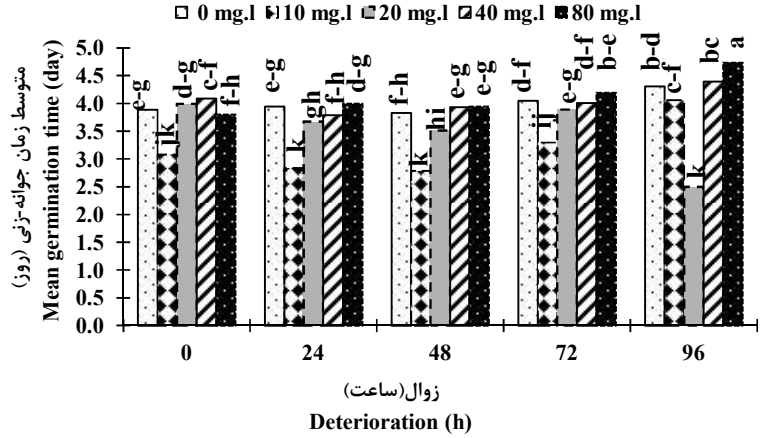
ns,* and ** indicate non- significant and significant $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively





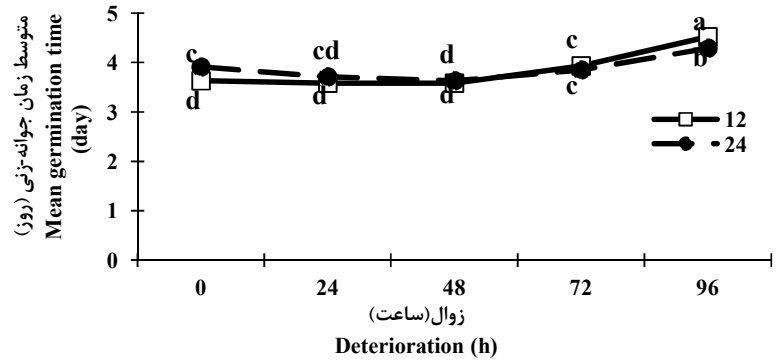
شکل ۱. مقایسه میانگین اثرهای اصلی سیتوکینین (الف)، زوال بذر (ب) و زمان پرایمینگ (ج) برای درصد جوانه‌زنی سیاهدانه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Fig 1. Mean comparison for effects of cytokinin (A), seed deterioration (B) and priming time (C) on germination of *Nigella sativa.* Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.



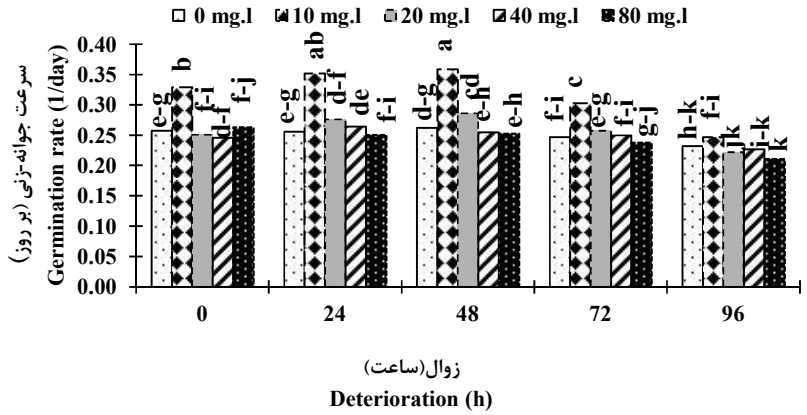
شکل ۲. برهمکنش غلظت هورمون و زوال بذر بر متوسط زمان جوانه‌زنی سیاهدانه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Fig 2. Interaction of hormone concentrations and seed deterioration on mean germination time of *Nigella sativa*. Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.



شکل ۳. برهمکنش زوال بذر و زمان پرایمینگ بر متوسط زمان جوانه‌زنی سیاهدانه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Fig 3. Interaction of seed deterioration and priming time on mean germination time of *Nigella sativa*. Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.



شکل ۴. برهمکنش غلظت هورمون و زوال بذر بر سرعت جوانه‌زنی سیاهدانه. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Fig 4. Interaction of hormone concentrations and seed deterioration on germination rate of *Nigella sativa.* Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.

حسینی[1] (۲۰۰۰) اعلام نمود که شرایط نرمال و زوال بذر تفاوت معنی‌داری بر شاخص‌های جوانه‌زنی ارقام کلزا دارد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. با افزایش سطوح زوال بذر، شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش می‌یابد. پژوهشگران متعددی گزارش نمودند که با افزایش سطح فرسودگی بذر درصد جوانه‌زنی و شاخص-های جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (آزادی[2] و همکاران، ۲۰۱۳). کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی را می‌توان به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان طی فرسودگی نسبت داد. پرایمینگ بذر از مهم‌ترین روش‌های بهبود دهنده شاخص‌های جوانه‌زنی بذور می‌باشد (فاروق[3] و همکاران، ۲۰۰۶).

پیش‌تیمار یا پرایمینگ بذر با افزایش فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات و مقدار پروتئین محلول و کاهش میزان مالون دی‌آلدهید و پراکسید کل و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها موجب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (هسو[4] و همکاران، ۲۰۰۳). پژوهش-های متعددی نشان داده‌اند که هورمون‌های گیاهی بر کاهش اثرات نامطلوب زوال بذر مؤثر هستند (کریشنان و همکاران، ۲۰۰۳). پرایمینگ بذرهای پیر شده نخود، عدس، ذرت و برنج با فیتوهورمون‌ها سبب افزایش درصد جوانه‌زنی و کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی گردید (بوباک[5] و همکاران، ۲۰۱۵ و کانتو[6] و همکاران، ۲۰۱۵). علت کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی در اثر اعمال پرایمینگ بذر، به افزایش احتمالی سرعت تقسیم سلولی در بذرهای پرایم شده نسبت داده شده است که در اثر، سنتز DNA، RNA و پروتئین در طی پرایمینگ بذر بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی در فرایند جوانه‌زنی کامل شده، و بذر در آستانه جوانه‌زنی قرار می‌گیرد (برانکالیون[7] و همکاران، ۲۰۰۸؛ فوتی[8] و همکاران، ۲۰۰۸). ژانگ[9] و همکاران (۲۰۱۴) در پژوهش‌هایی، بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته کلزا و گوجه فرنگی را در نتیجه پیش‌جوانه‌دار کردن بذر گزارش نمودند. به‌نظر می‌رسد که بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده به دلیل افزایش سرعت انتقال قندهای محلول به جنین در حال رشد می‌باشد که این امر ناشی از افزایش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز است. در این راستا آندوه و کوباتا[10] (۲۰۰۲) افزایش در سرعت جوانه‌زنی بذرهای پیش‌جوانه‌دار شده گندم و برنج را ناشی از افزایش ۲/۷ و ۲/۸ برابری در فعالیت

[1] Hosseini
[2] Azadi
[3] Farooq
[4] Hsu
[5] Bobak
[6] Kanto
[7] Brancalion
[8] Foti
[9] Zhang
[10] Andoh and Kobata

جدول ۲. تجزیه واریانس تأثیر غلظت هورمون و زمان پرایمینگ و زوال بذر بر شاخص‌های رشد گیاهچه و بنیه بذرهای سیاهدانه

Table 2. Analysis of variance for hormone concentration and priming time and seed deterioration on seedling growth and seed vigor of *Nigella sativa*

S.O.V منابع تغییر	درجه آزادی df	Mean Square میانگین مربعات					
		طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Hypocotyl length	طول گیاهچه Seedling length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص طولی بنیه Length vigour index	شاخص وزنی بنیه Weight vigour index
زوال (D) Deterioration	4	5.70**	11.90**	1.32**	0.99076**	12.02**	0.91**
غلظت هورمون (H) Hormone concentration	4	82.53**	107.54**	1.85**	1.16749**	92.77**	1.26**
زمان پرایمینگ (T) Priming time	1	1.29*	0.71ns	1.09 ns	0.00006ns	1.31*	0.04**
هورمون×زوال H×D	16	1.66**	2.71**	0.40**	0.157453**	2.10**	0.09**
هورمون×زمان پرایمینگ H×T	4	3.14**	5.65**	0.47**	0.04554ns	3.36**	0.03**
زوال×زمان پرایمینگ D×T	4	0.55*	0.57ns	0.07 ns	0.26452**	0.81*	0.14**
هورمون×زوال×زمان پرایمینگ H×D×T	16	0.92**	2.18**	0.935**	0.15661**	1.54**	0.05**
خطای آزمایشی Error	149	0.209	0.25	0.037**	0.018	0.25	0.01
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	24.05	19.05	25.92	20.12	23.24	23.93

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns,* and ** indicate non- significant and significant $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively

آنزیم آلفا آمیلاز نسبت به بذرهای پرایم نشده اعلام کردند. محققان همچنین افزایش در فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و پراکسیداز و کاهش در فعالیت آنزیم لیپاز در نتیجه پیش‌جوانه‌دار کردن را از عوامل مؤثر بر بهبود سرعت جوانه‌زنی بذرهای زوال یافته دانستند (واریر[1] و همکاران، ۲۰۱۰).

شاخص‌های رشد گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش سه‌گانه زوال، غلظت هورمون و زمان پرایمینگ برای شاخص‌های رشد گیاهچه در سطح احتمال خطای یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد با شدت یافتن زوال (۹۶ ساعت)، شاخص‌های رشد گیاهچه به‌شدت کاهش یافتند به‌طوری‌که در برخی تیمارها گیاهچه نرمالی قابل مشاهده نبود.

همچنین مشاهده شد، کاربرد سیتوکینین در غلظت‌های پایین (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر) موجب کاهش تاثیر منفی زوال شد. ولی بالارفتن غلظت سیتوکینین، سمیت در گیاه و افزایش تأثیر مخرب تنش را به همراه داشت. نتایج نشان داد بیش‌ترین طول ریشه‌چه (۵/۹۱ سانتی‌متر)، ساقه‌چه (۷/۹۰ سانتی‌متر)، طول گیاهچه (۱/۹۹ سانتی‌متر) و وزن خشک گیاهچه (۱ میلی‌گرم) از فرسودگی ۷۲ ساعت، مدت پرایم ۱۲ ساعت و استفاده از ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر غلظت سیتوکینین به دست آمد و کم‌ترین مقدار صفات مذکور از ۹۶ ساعت زوال و ۸۰ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد (جداول ۳ و ۴). در این مطالعه افزایش مدت زمان زوال تسریع‌شده به‌طور معنی‌داری شاخص‌های رشد گیاهچه را تحت تأثیر قرار داد و در مجموع باعث کاهش کیفیت بذر گردید. در عین حال پیش‌تیمار بذر با هورمون سیتوکینین از کاهش کیفیت بذرها در شرایط زوال

[1] Varier

جدول ۳. مقایسه میانگین برهمکنش غلظت هورمون و زمان پرایمینگ و زوال بذر بر طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه سیاهدانه

Table 3. Mean comparison of hormone concentration, priming time and seed deterioration interaction on radical length, hypocotyl length and seedlind length of *Nigella sativa*

زوال Deterioration (hours)	سیتوکینین Cytokinin (mg/l)	طول ریشه‌چه Radicle length (cm)		طول ساقه‌چه Hypocotyl length (cm)		طول گیاهچه Seedling length (cm)	
		زمان پرایمینگ Priming time (hours)		زمان پرایمینگ Priming time (hours)		زمان پرایمینگ Priming time (hours)	
		12	24	12	24	12	24
0	0	3.03^{f-h}	1.53^{l-q}	1.29^{c-e}	0.78^{i-q}	4.32^{gh}	2.31^{l-o}
	10	3.95^{de}	4.55^{cd}	0.92^{g-m}	1.48^{bc}	4.87^{e-h}	6.04^{cd}
	20	2.42^{g-j}	2.60^{g-i}	0.72^{j-r}	0.63^{l-s}	3.14^{jk}	3.23^{jk}
	40	0.65^{r-u}	0.47^{s-u}	0.58^{n-s}	0.53^{o-s}	1.23^{q-v}	1.00^{s-v}
	80	0.76^{r-t}	0.83^{q-t}	0.94^{g-l}	0.94^{g-l}	1.71^{o-t}	1.78^{n-s}
24	0	1.68^{j-n}	1.25^{m-r}	0.61^{m-s}	0.55^{o-s}	2.30^{l-o}	1.81^{n-s}
	10	4.35^{cd}	5.61^{ab}	0.81^{i-p}	1.26^{c-f}	5.16^{fe}	6.87^{b}
	20	2.48^{g-i}	2.53^{g-i}	0.60^{n-s}	0.87^{g-n}	3.08^{j-l}	3.41^{ij}
	40	0.89^{o-t}	0.66^{r-u}	1.07^{e-i}	0.94^{g-l}	1.96^{m-q}	1.61^{o-u}
	80	0.40^{s-u}	0.28^{tu}	0.52^{p-s}	0.36^{s}	0.92^{uv}	0.64^{vw}
48	0	2.48^{g-i}	1.01^{n-t}	0.60^{n-s}	0.82^{i-p}	3.09^{j-l}	1.83^{n-r}
	10	5.64^{a}	4.88^{bc}	1.16^{d-h}	0.63^{l-s}	6.81^{bc}	5.52^{de}
	20	2.57^{g-i}	3.02^{f-h}	0.52^{o-s}	1.47^{b-d}	3.10^{j-l}	4.49^{f-h}
	40	1.09^{n-s}	0.76^{r-t}	0.98^{e-k}	0.62^{m-s}	2.07^{m-p}	1.39^{p-v}
	80	0.38^{s-u}	0.00^{u}	0.46^{q-s}	0.00^{t}	0.84^{uv}	0.00^{w}
72	0	2.07^{i-l}	0.85^{p-t}	0.61^{m-s}	0.59^{n-s}	2.69^{j-m}	1.44^{p-v}
	10	5.91^{a}	4.24^{cd}	1.99^{a}	1.16^{d-h}	7.90^{a}	5.41^{de}
	20	3.06^{fg}	3.39^{ef}	1.02^{e-j}	1.61^{b}	4.09^{hi}	5.00^{e-g}
	40	0.44^{s-u}	0.57^{r-u}	0.60^{n-s}	1.18^{c-g}	1.04^{r-v}	1.76^{n-s}
	80	0.00^{u}	0.32^{tu}	0.00^{t}	0.72^{j-r}	0.00^{w}	1.04^{r-v}
96	0	1.61^{k-o}	0.50^{s-u}	0.95^{f-k}	0.51^{p-s}	2.56^{k-n}	1.01^{s-v}
	10	2.32^{h-k}	3.39^{ef}	0.59^{n-s}	0.87^{h-o}	2.91^{j-l}	4.25^{gh}
	20	1.87^{i-m}	1.58^{k-p}	0.67^{k-s}	0.45^{rs}	2.55^{k-n}	2.03^{m-q}
	40	0.00^{u}	0.00^{u}	0.00^{t}	0.00^{t}	0.00^{w}	0.00^{w}
	80	0.00^{u}	0.00^{u}	0.00^{t}	0.00^{t}	0.00^{w}	0.00^{w}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون دانکن می‌باشد.

Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.

جلوگیری نمود. نتایج مشابهی نیز توسط بسیاری از محققان گزارش شده است. معنی‌داری اثر سیتوکینین بر صفت طول ساقه‌چه با یافته‌های موریس و آرتور[1] (۱۹۸۴) مطابقت دارد. نتایج آزمایش بلدی[2] و همکاران (۲۰۱۶) بر گیاه کتان روغنی نشان داد درصد گیاهچه-های طبیعی و شاخص بنیه گیاهچه با افزایش طول دوره انبارداری و افزایش میزان رطوبت بذر در همه سطوح دمایی کاهش یافت و این روند کاهشی، با ترکیب دما و رطوبت افزایش یافت.

پرایمینگ با کاهش تاثیر فرسودگی موجب بهبود شاخص‌های رشد گیاهچه می‌شود. در آزمایشی که بر ارقام ذرت صورت گرفت، نشان داده شد که زوال سبب کاهش شاخص‌های رشد گیاهچه‌ها شده و پرایمینگ هورمونی با سیتوکینین و جیبرلین باعث بهبود صفات مذکور شد (رشیدی[3] و همکاران، ۲۰۱۷). پژوهشگران عنوان نمودند که استفاده از تکنیک پرایمینگ هورمونی بذر موجب بهبود رشد گیاهچه و افزایش شاخص وزنی بنیه گیاهچه‌های آگروپایرون، ذرت و گندم می‌گردد (عیسوند[4] و همکاران، ۲۰۱۰؛ رحمان[5] و همکارن،

[1] Morris and Arthur
[2] Baladi
[3] Rashidi
[4] Eisvand
[5] Rehman

و خان[1] و همکاران، ۲۰۱۱). عوامل کاهش دهنده کیفیت بذر مانع استقرار مناسب گیاهچه‌ها در شرایط مزرعه‌ای خواهند شد که فرسودگی بذور به هنگام نگه-داری آن‌ها در انبار از پدیده‌های رایج است (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۴). فرسودگی با افزایش میزان گلوگز و تنفس گیاهچه، بر سنتز پروتئین‌ها و DNA سنتاز گیاهچه اثر می‌گذارد و موجب کاهش پویایی ذخایر بذر و رشد گیاهچه می‌شود (مورتی[2] و همکاران، ۲۰۰۳). کاهش طول و وزن خشک گیاهچه می‌تواند به خاطر کاهش انتقال ذخایر بذرها از لپه‌ها به محور جنینی باشد (بلک و بیولی[3]، ۲۰۰۹). مطالعات زیادی نشان داده‌اند، زوال بذر به‌طور معنی‌داری جوانه‌زنی، سبز شدن و رشد گیاهچه را کاهش می‌دهد و پرایمینگ می‌تواند این کاهش را تا حدودی جبران نماید. با توجه به اینکه هورمون سیتوکینین سبب فعالیت پروتئین‌های مؤثر در آبشارهای پیام‌رسانی سلول می‌شود، افزایش درصد جوانه‌زنی و بهبود طول گیاهچه در این شرایط را می-توان به افزایش انتقال مواد غذایی به جنین درحال رشد و افزایش سرعت تقسیم سلول در نتیجه بهبود جذب آب دانست (مولر و شین[4]، ۲۰۰۷).

شاخص‌های بنیه

نتایج تجزیه واریانس مربوط به شاخص‌های طولی و وزنی بنیه نشان داد که اثرهای سه‌گانه شامل مدت زمان زوال، زمان پرایمینگ و غلظت سیتوکینین برای صفات شاخص طولی و وزنی بنیه نیز در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). پرایمینگ بذرها با سیتوکینین موجب کاهش تأثیر منفی زوال بر شاخص-های بنیه و سبب بهبود شاخص‌های بنیه بذر شد.

در بین غلظت‌های مختلف مورد استفاده، کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین تأثیر را بر این دو صفت داشت، اما غلظت‌های بالاتر از ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش شدید در بنیه بذر شد. هم‌چنین مشاهده شده در غلظت بهینه پرایمینگ به مدت ۲۴ ساعت تاثیری بیشتری در مقایسه با ۱۲ ساعت داشت این درحالی بود که در غلظت‌های کم‌تر و بالاتر از بهینه مدت زمان ۱۲ ساعت تأثیر بیش‌تری نشان داد. به‌طور کلی بیش‌ترین شاخص طولی بنیه (۶/۷۲ و ۶/۵۸) به-ترتیب از سطوح ۴۸ ساعت زوال، ۱۲ ساعت پرایمینگ، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون سیتوکینین و از سطوح ۲۴ ساعت زوال، ۲۴ ساعت پرایمینگ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر هورمون سیتوکینین حاصل گردید (جدول ۴). این درحالی است که بیش‌ترین شاخص وزنی از بذور زوال نیافته و پرایم شده با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲ ساعت به دست آمد (جدول ۴).

پرمون و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه بر روی گیاه دارویی ماریتیغال گزارش کردند که زوال تسریع‌شده سبب کاهش شاخص‌های رشد گیاهچه، شاخص‌های بنیه و کارایی استفاده از ذخایر پویا، کسر ذخایر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، و افزایش میزان استفاده از ذخایر شد. کاهش کارایی استفاده از ذخایر بذر و کسر ذخایر انتقال یافته بذر به گیاهچه می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و کاهش سنتز آنزیم-های هیدرولیتیک آلفا و بتا آمیلاز در فرآیند جوانه‌زنی در طی فرسودگی باشد (مکدونالد[5]، ۱۹۹۹). پرایمینگ بذر موجب ترمیم برخی آسیب‌های به وجود آمده به واسطه فرسودگی بذر و در نتیجه بهبود کیفیت بذر می-گردد (کاسنا و و تاسلی[6]، ۲۰۰۷). سیادت و همکاران (۲۰۱۵) پیش‌تیمار سیتوکینین را بر شاخص بنیه بذرهای زوال یافته گیاه خارمریم مؤثر دانستند.

[1] Khan
[2] Murthy
[3] Black and Bewley
[4] Muller and Sheen
[5] McDonald
[6] Casenave and Toselli

جدول ۴. مقایسه میانگین برهمکنش غلظت هورمون و زمان پرایمینگ و زوال بذر بر وزن خشک ، شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهچه سیاهدانه

Table 4. Mean comparison of hormone concentration, priming time and seed deterioration interaction on seedling dry weight, length and weight vigour index of *Nigella sativa*

زوال Deterioration (hours)	سیتوکینین Cytokinin (mg/l)	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight		شاخص طولی بنیه Length vigour index		شاخص وزنی بنیه Weight vigour index	
		زمان پرایمینگ Priming time (hours)		زمان پرایمینگ Priming time (hours)		زمان پرایمینگ Priming time (hours)	
		12	24	12	24	12	24
0	0	0.83^{a-e}	1.00^{ab}	3.42^{e-g}	1.80^{j-n}	0.64^{e-i}	0.78^{b-e}
	10	1.03^{a}	0.90^{a-d}	4.68^{bc}	5.14^{b}	0.99^{a}	0.74^{b-f}
	20	0.90^{a-d}	0.83^{a-e}	2.68^{f-i}	2.63^{g-i}	0.75^{b-f}	0.68^{d-g}
	40	0.47^{i-k}	0.46^{i-k}	1.00^{n-t}	0.62^{r-u}	0.38^{j-o}	0.29^{m-o}
	80	0.71^{d-h}	0.73^{d-g}	1.25^{m-s}	1.04^{n-t}	0.50^{g-l}	0.43^{j-n}
24	0	0.96^{a-c}	0.43^{i-k}	1.90^{i-m}	1.43^{m-r}	0.80^{a-e}	0.37^{j-o}
	10	0.96^{a-c}	0.96^{a-c}	4.75^{bc}	6.58^{a}	0.89^{a-c}	0.93^{ab}
	20	0.93^{a-d}	0.96^{a-c}	2.56^{h-j}	2.73^{f-h}	0.79^{a-e}	0.77^{b-f}
	40	0.83^{a-e}	0.66^{e-i}	1.67^{k-o}	1.12^{m-t}	0.71^{c-g}	0.47^{h-m}
	80	0.40^{jk}	0.46^{i-k}	0.69^{q-u}	0.44^{tu}	0.30^{l-o}	0.31^{k-o}
48	0	0.90^{a-d}	0.83^{a-e}	2.43^{h-k}	1.51^{l-p}	0.70^{c-g}	0.69^{c-g}
	10	0.83^{a-e}	0.80^{b-f}	6.72^{a}	4.79^{bc}	0.82^{a-e}	0.68^{c-g}
	20	0.96^{a-c}	0.90^{a-d}	2.68^{f-i}	3.78^{de}	0.84^{a-e}	0.75^{b-f}
	40	1.00^{ab}	1.00^{ab}	1.80^{j-n}	1.03^{n-t}	0.86^{a-d}	0.74^{b-f}
	80	0.73^{d-g}	0.00^{l}	0.58^{s-u}	0.00^{u}	0.50^{g-l}	0.00^{p}
72	0	0.50^{i-k}	0.76^{c-f}	2.09^{h-l}	0.92^{o-t}	0.39^{j-o}	0.50^{g-l}
	10	1.00^{ab}	0.93^{a-d}	4.83^{a}	4.56^{b-d}	0.86^{a-d}	0.79^{a-e}
	20	0.83^{a-d}	0.96^{a-c}	2.80^{f-h}	4.10^{c-e}	0.57^{f-j}	0.79^{a-e}
	40	0.40^{jk}	0.80^{b-f}	0.75^{p-u}	1.15^{m-t}	0.29^{m-o}	0.52^{g-k}
	80	0.00^{l}	0.81^{b-f}	0.00^{u}	0.58^{s-u}	0.00^{p}	0.44^{i-n}
96	0	0.33^{k}	0.46^{i-k}	1.59^{l-o}	0.54^{s-u}	0.20^{op}	0.24^{no}
	10	0.90^{a-d}	0.80^{b-f}	2.14^{h-l}	3.46^{ef}	0.66^{d-h}	0.65^{e-h}
	20	0.00^{l}	0.53^{g-k}	1.45^{l-q}	1.05^{n-t}	0.30^{l-o}	0.30^{l-o}
	40	0.60^{f-j}	0.00^{l}	0.00^{u}	0.00^{u}	0.00^{p}	0.00^{p}
	80	0.00^{l}	0.00^{l}	0.00^{u}	0.00^{u}	0.00^{p}	0.00^{p}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون دانکن می‌باشد.

Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرهای اصلی پرایمینگ و زوال بر فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پروتئین در سطح احتمال خطای ۱ درصد معنی‌دار بود، در حالی که تنها اثر اصلی زوال بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال خطای ۱ درصد اثر گذار بود. برهم‌کنش پرایمینگ و زوال بر فعالیت هیچ یک از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و میزان پروتئین سیاهدانه اثر گذار نبود (جدول ۵). روند تغییرات نشان داد که زوال باعث کاهش میزان پروتئین بذر و کاهش فعالیت آنزیم-های پراکسیداز و کاتالاز شد. شیب تغییرات کاتالاز کمتر از پراکسیداز و پروتئین بود به‌طوری که در شرایط شاهد فعالیت این آنزیم ۱/۱ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه بود که در اثر ۹۶ ساعت زوال فعالیت این آنزیم با کاهش ۴۳ درصدی به ۰/۶۲ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین رسید. تغییرات پراکسیداز و پروتئین نیز در اثر زوال در حدود ۴۵ و ۵۰ درصد مشاهده شد (شکل ۵). کاربرد سیتوکینین در غلظت بهینه موجب بهبود فعالیت کاتالاز و میزان پروتئین شد. در شرایط شاهد فعالیت کاتالاز ۰/۷۶ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین و میزان پروتئین ۰/۵۱ میلی‌گرم در گرم بود که با پرایمینگ بذور مقدار آن به ۰/۹۷ و ۰/۷۹ رسید (شکل ۶).

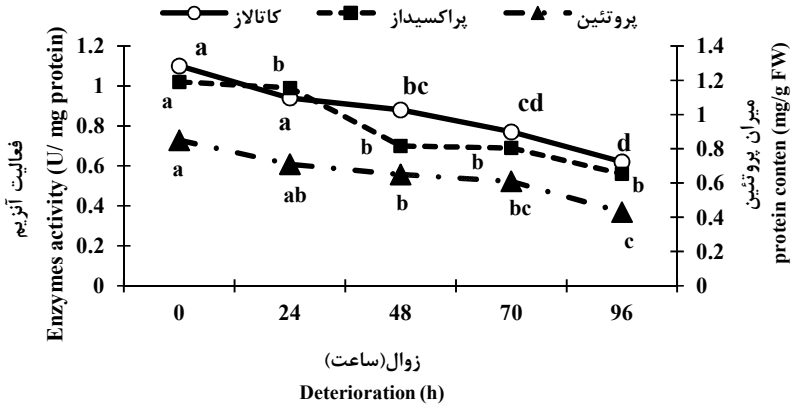
جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان پروتئین بذرهای سیاهدانه تحت تأثیر پیش‌تیمار و زوال بذر

Table 5. Analysis of variance for antioxidant enzymes and protein content of seeds *Nigella sativa* affected by seed priming and deterioration

S.O.V منابع تغییر	df درجه آزادی	Mean Squares میانگین مربعات		
		کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	پروتئین Protein
پرایمینگ Priming (P)	1	0.324**	0.0294^{ns}	0.585**
زوال Deterioration (D)	4	0.197**	0.2451**	0.1407**
پرایمینگ×زوال P×D	4	0.0069^{ns}	0.0964^{ns}	0.0105^{ns}
خطا آزمایشی Error	20	0.0182	0.0353	0.0263
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	15.57	23.6	24.7

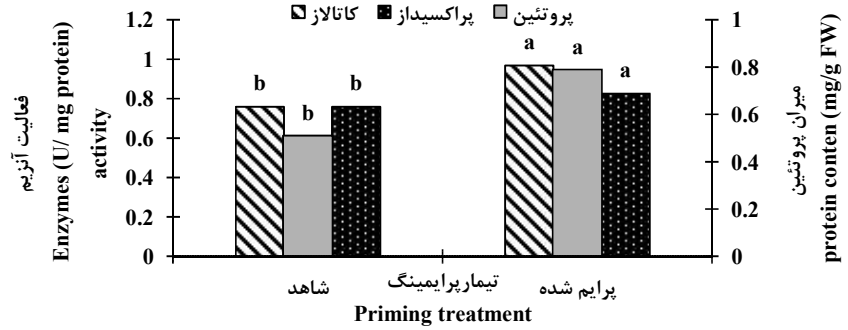
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

ns,* and ** indicate non- significant and significant $p<0.05$ and $p<0.01$, respectively



شکل ۵. تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان پروتئین تحت تأثیر مدت زوال. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد

Fig 5. Changes in antioxidant enzyme activity and protein content affected by deterioration. Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.



شکل ۶. تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان پروتئین تحت تأثیر پرایمینگ بذر با سیتوکینین. وجود حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد

Fig 6. Changes in antioxidant enzyme activity and protein content affected by seed priming with cytokinin. Different letters represent a significant difference at $p<0.05$ based on Duncan's multiple range test.

جدول ۶. نتایج رگرسیون چند متغییر خطی سیتوکنین× زمان × زوال بر صفات مورد ارزیابی

Table 6. The results of multivariate linear regression Cytokinin× Time× Degradation on the evaluated traits

صفت Trait	معادله Equation	Coefficients Beta			F	R^2
		غلظت (L) Density	زمان (T) Time	زوال (G) Deterioration		
درصد جوانه‌زنی Percentage of germination	Y= 97.84- 0.221×L- 0.444×T- 0.180×G	-0.500**	-0.213*	-0.488**	17.59**	0.534
متوسط زمان جوانه‌زنی Mean germination time	Y= 3.34+ 0.006×L + 0.003×T +0.006×G	0.354**	0.032ns	0.445**	7.36**	0.324
سرعت جوانه‌زنی Germination rate	Y = 0.30- 0.00047×L- 0.00023×T- 0.00043×G	-0.352**	-0.037ns	-0.384**	5.77**	0.273
طول ریشه‌چه Radicle length	Y = 3.60- 0.035×L- 0.016×T – 0.008×G	-0.598**	-0.056ns	-0.157ns	9.61**	0.385
طول ساقه‌چه Hypocotyl length	Y = 1.01- 0.006×L + 0.004×T- 0.003×G	-0.417**	0.059ns	-0.255ns	4.91**	0.243
طول گیاهچه Seedling length	Y = 4.61- 0.041×L – 0.012×T – 0.011×G	-0.592**	-0.035ns	-0.187ns	9.68**	0.387
وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	Y = 1.03- 0.005×L – 0.00003×T – 0.004×G	-0.486**	-0.001ns	-0.408**	10.34**	0.403
شاخص طولی بنیه Length vigour index	Y = 4.08- 0.036×L – 0.016×T – 0.012×G	-0.562**	-0.052ns	-0.219ns	8.89**	0.367
شاخص وزنی بنیه Weight vigour index	Y = 0.92- 0.005×L – 0.003×T- 0.004×G	-0.536**	-0.059ns	-0.443**	14.54**	0.487

L= غلظت سیتوکینین (میلی‌گرم بر لیتر)، T = مدت زمان پرایمینگ (ساعت) و G= مدت زمان زوال (ساعت) می‌باشد.

L= Concentration of cytokinin T= Duration of priming (h) and GT= the time of deterioration (h)

فرسودگی سبب تغییر در ساختار مولکول‌های DNA و پروتئین‌های بذر شده (فوجیکورا و کارسن[1]، ۱۹۹۵) و موجب جلوگیری از بیان برخی ژن‌ها می‌شود. فعالیت آنزیم کاتالاز در طی فرسودگی بذر به علت اختلال در بیان ژن‌های آن کاهش پیدا می‌کند که این دلیل تغییرات متناسب این آنزیم با درصد و سرعت جوانه‌زنی است (کیبینزا[2] و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج محققان نشان داد که افزایش در دوره زوال تسریع‌شده سبب کاهش در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد و چنین نتیجه‌گیری شد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در جوانه‌زنی بذر بعد از زوال اثر گذار بوده و بذرهای با فعالیت آنزیمی بالاتر دارای درصد جوانه‌زنی بیشتری بودند (سیادت و همکاران، ۲۰۱۲). پژوهشگران بیان کرده‌اند که تشکیل زیر واحدهای کاتالاز در سیتوپلاسم و تکمیل سنتز آن در پراکسی‌زوم صورت می‌گیرد و در جریان فرآیند زوال، به دلیل خروج محتویات سیتوپلاسم از غشاء و آسیب‌های وارده به اندامک‌های سلول، چرخه ساخت این آنزیم تکمیل نمی-گردد (گوئل[3] و همکاران، ۲۰۰۳ و جیوتی و مالیک[4]، ۲۰۱۳). آنزیم پراکسیداز تقسیم سلولی را افزایش می-دهد بنابراین می‌تواند به عنوان یک عامل کلیدی در افزایش رشد گیاهچه‌ها به حساب آید (روحی[5] و همکاران، ۲۰۱۲). فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر تنش-های اکسیداتیو کاهش پیدا می‌کند، کاهش فعالیت آن را می‌توان به کاهش رونوشت‌برداری و آسیب در ساختار DNA در طی زوال مرتبط دانست (بری[6]، ۱۹۹۵). توکل توکل افشاری[7] و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعات خود عنوان نمودند که فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه‌های کلزا در اثر زوال بذر کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر اثر زوال بذر به دلایل متعددی مانند آسیب رسیدن به سنتز RNA که در نهایت موجب کاهش تولید پروتئین خواهد شد، کاهش سنتز پروتئین‌ها از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رسوب و غیرفعال شدن آنزیم‌ها اتفاق می‌افتد (باسرا و همکاران،

[1] Fujikura and Karssen
[2] Kibinza
[3] Goel
[4] Jyoti and Malik
[5] Rouhi
[6] Bray
[7] Tavakol Afshari

۲۰۰۳).

پیش‌جوانه‌دار کردن بذر قادر است از طریق سنتز و ترمیم ساختارهای پروتئینی موجود در بذر، بخشی از خسارات وارده را جبران نموده و از شدت تنش اکسیداتیو بکاهد، بخشی از این کار توسط بهبود در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی انجام می‌شود (ایکسیا[1] و همکاران، ۲۰۱۵). مطالعات نشان می‌دهد که پیش-جوانه‌دار کردن بذرهای زوال یافته منجر به ترمیم DNA، RNA، پروتئین‌ها، غشاها و بهبود در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، دهیدروژناز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌گردد (واریر و همکاران، ۲۰۱۰ و جیشا[2] و همکاران، ۲۰۱۳). کیبینزا و همکاران (۲۰۱۱) نیز دریافتند که پیش‌تیمار بذرهای زوال یافته گندم، توانست فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش دهد. آن‌ها کاتالاز را کلیدی‌ترین آنزیم در جهت کاهش اثرهای منفی زوال ذکر نمودند.

نتایج رگرسیون

نتایج رگرسیون عوامل آزمایش نشان داد، معادله خطی عوامل مورد بررسی بر تمام صفات معنی‌دار بود. درصد جوانه‌زنی و شاخص وزنی بنیه نیز دارای بالاترین ضریب تبیین بود و معادله آن‌ها توانست ۵۳ و ۴۸ درصد تغییرات را پیش‌بینی کند. هم‌چنین مشاهده شد غلظت سیتوکینین همواره بالاترین ضریب استاندارد شده بتا را به خود اختصاص داده، این درحالی بود که ضریب بتا در زمان و مدت زمان زوال همواره معنی‌ار نبود. بالاترین ضریب بتا غلظت مربوط به طول ریشه‌چه (۰/۵۹۸) و بعد از آن طول گیاهچه (۰/۵۹۲) بود (جدول ۶).

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به دست آمده زوال موجب کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد گیاهچه و بنیه بذر، میزان پروتئین بذر و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز بذر سیاهدانه شد. در پژوهش حاضر مشاهده شد، کاربرد ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سیتوکینین به مدت زمان ۱۲ ساعت، بیش‌ترین تأثیر را در بهبود صفات مورد بررسی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان داشت.

[1] Xia
[2] Jisha

منابع

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, A.J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. Crop Science, 13: 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Aebi, H.E. 1983. Catalase. In: Bergmeyer, H.U., Ed., Methods of Enzymatic Analysis, Verlag Chemie, Weinhem, 273-286.

Agrawal, R. 2003. Seed technology. Publication. Co. PVT. LTD. New Delhi. India. 64: 229-236.

Al Rowais. N.A. 2002. Herbal medicine in the treatment of diabetes mellitus. Saudi Medical Journal, 23: 27-31.

Andoh, H. and Kobata, T. 2002. Effect of seed hardening on the seedling emergence and alpha amylase activity in the grains of wheat and rice sown in dry soil. Japanese Journal of Crop Science, 71: 220-225. https://doi.org/10.1626/jcs.71.220

Azadi, M.S., Tabatabaei, S.A., Younesi, E., Rostami, M.R. and Mombeini, M. 2013. Hormone priming improves germination characteristics and enzyme activity of sorghum seeds (*Sorghum bicolor* L.) under accelerated aging. Cercetari Agronomice in Moldova, 3(155): 49-56. https://doi.org/10.2478/v10298-012-0092-8

Bailly. C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107. https://doi.org/10.1079/SSR2004159

Baladi, S., Balouchi, H.R., Moradi, A. and Movahhedi Dehnavi, M. 2016. Effect of different temperatures and moisture during storage on germination indices of oilseed. Journal of Seed Science and Technology, 5(1): 107-122. [In Persian with English Summary].

Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N. and Cheema, M.A. 2003. Assessment of cotton seed deterioration during accelerated aging. Seed Science and Technology, 31: 531-540. https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.02

Black, M. and Bewley, J.D. 2009. Seed Technology and its Biological Basis. Translated by R, TavakkolAfshari. A, AbbasiSurki. E, Ghasemi. University of Tehran Press. 515 pages. [In Persian].

Bobak, S.A., Parvis, N.K. and Ansari, W.M. 2015. An assessment of the effects of seed ageing application of phytohormone and KNO on aged corn seeds. African Journal of Agronomy, 3: 235-243. [In Persian with English Summary].

Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. "Seed Development and Germination" (J. Kigel and G. Galili, Eds.), Marcel dekkerinc. New York. pp, 351-396. https://doi.org/10.1201/9780203740071-13

Brancalion, P.H.S., Novembre, A.D.L.C., Rodrigues, R.R. and Tay, D. 2008. Priming of *Mimosa bimucronata* seeds: a tropical tree species from Brazil. Journal of Acta Horticulturae, 82: 163-168. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.782.18

Bray, C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds, in: Kigel, Y., Galili, G. (Eds.). Seed Development and Germination, 767-789. https://doi.org/10.1201/9780203740071-28

Casenave, E.C. and Toselli, M.E. 2007. Hydropriming as a pre-treatment for cotton germination under thermal and water stress conditions. Seed Science and Technology, 35: 88-98. https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.08

Eisvand, H.R., Alizadeh, M.A. and Fekri, A. 2010. How Hormonal priming of aged and nonaged seeds of bromegrass affects seedling physiological characters. Journal of New Seeds, 11(1): 52-64. https://doi.org/10.1080/15228860903584523

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of aging and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 373-409.

Farooq, M., Basra, S.M.A., Warraich, E.A. and Khaliq, A. 2006. Optimization of hydro priming Techniques for rice seed invigoration. Seed Science and Technology, 34: 529-534. https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.25

Foti, R., Abureni, K., Tigere, A., Gotosa, J. and Gere, J. 2008. The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses. Journal of Arid Environments, 72: 1127-1130. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2007.11.008

Fujikura, Y. and Karssen, C.M. 1995. Molecular studies on osmoprimed seeds of cauliflower: a partial amino acid sequence of a vigour-related protein and osmopriming. Seed Science Research, 5: 177-181. https://doi.org/10.1017/S0960258500002804

Goel, A., Goel, A.K. and Sheoran, I.S. 2003. Changes in oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. Journal of Plant Physiology, 160: 1093-1100. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00881

Goreja, W.G. 2003. Black Seed: Nature's Miracle Remedy, Amazing Herbs Press, New York, NY.

Hemeda, H.M. and Kelin, B.P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. Journal of Food Science, 55: 184-192. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x

Hosseini, A. and Kuchaki, A.R. 2007. Effect of different treatments on germination and germination rate of four sugar beet cultivars. Iranian Journal of Agricultural Research, 5(1): 69-76. [In Persian with English Summary].

Hosseini, F. 2000. The effect of seed deterioration on germination, establishment and yield of five Rapeseed varieties in Ahvaz climatic conditions. Master Thesis Agriculture and Natural Resources University of Ahvaz, 285 p. [In Persian with English Summary].

Hsu, C.C., Chen, C.L., Chen, J.J. and Sung, J.M. 2003. Accelerated aging-enhanced lipid peroxidation in bitter gourd seeds and effects of priming and hot water soaking treatments. Scientia Horticulture, 98: 201-212. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00002-5

Ikic, I., Maricevic. M., Tomasovic. S., Gunjaca, Z.S. and Atovic, H.S. 2012. Arcevic the effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. Euphytica, 188: 25-34. https://doi.org/10.1007/s10681-012-0735-8

ISTA. 2012. International rules for seed testing, edition 2012. Did you mean: International Seed Testing Association Bassersdorf, Switzerland.

Jiang, Y. and Huang, B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442. https://doi.org/10.2135/cropsci2001.412436x

Jisha, K.C., Vijayakumari, K. and Puthur, J.T. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiologiae Plantarum, 35: 1381-1396. https://doi.org/10.1007/s11738-012-1186-5

Jyoti, C. and Malik, P. 2013. Seed deterioration: a review. International Journal of Life Sciences and Biotechnology Pharma Research, 2(3): 374- 385.

Kanto, V., Jutamanec, K., Osotspar, Y., Chaiarree, W. and Jattupornpang, S. 2015. Promotive effect of priming with 5-Amonolevulinic acid on seed germination capacity, seedling growth and antioxidant enzyme activity in rice subjected to accelerated aging treatment. Plant Production Science, 18: 443-454. https://doi.org/10.1626/pps.18.443

Khan, M.A., Gurchani, M.A., Hussain, M., Freed, S. and Mahmood, K. 2011. Wheat seed enhancement by vitamin and hormonal priming. Pakistan Journal of Botany, 43(3): 1495-1499.

Kibinza, S., Bazin, J., Bailly, C., Farrant, J. M., Corbineau, O. and El-Maarouf-Bouteau, H. 2011. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. Plant Science, 181: 309-315. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.06.003

Kirshnan, P., Nagarajan, S., Dadlani, M. and Moharir, A.V. 2003. Characterization of wheat (*Triticum aestivum*) and soybean (*Glycine max*) seeds under accelerated ageing condition by proton nuclear magnetic spectroscopy. Seed Science and Technology, 31: 541-550. https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.03

Macdonald, C.M., Floyd, C.D. and Waniska, R.D. 2004. Effect of accelerated aging on maize and sorghum. Journal of Cereal Science, 39: 351-361. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2004.01.001

Marshal, A.H., and Lewis, D.N. 2004. Influence of seed storage conditions on seedling emergence, seedling growth and dry matter production of temperature forage grasses. Seed Science and Technology, 32: 493-501. https://doi.org/10.15258/sst.2004.32.2.19

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

Morris, D.A. and Arthur, E.D. 1984. Invertase and auxin-induced elongation in intermodal segments Phaseolus vulgaris. Phytochemistry, 23(10): 2163-2167. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80512-9

Muller, B. and Sheen, J. 2007. Advances in cytokinin signaling. Science, 318(68): 68-69. https://doi.org/10.1126/science.1145461

Murthy, U.M.N., Kumar, P.D. and Sun, W.Q. 2003. Mechanisms of seed aging under different storable conditions for *Vigna radiata* L. wilczek. Lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillavdn reactions and their relationship to state transition. Journal of Experimental Botany, 384: 1057-1067. https://doi.org/10.1093/jxb/erg092

Nascimento, W.M. and Aragao, F.A.S. 2004. Muskmelon seed priming in relation to seed vigor. Scientia Agricola, 61(1): 114-117. https://doi.org/10.1590/S0103-90162004000100019

Noctor, G. and Foyer, C. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 249-279. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249

Parmoon, G.h., Ebadi, A., Jahanbakhsh Godahkahriz, S. and Davari, M. 2014. Effect of seed priming by salicylic acid on the physiological and biochemical traits of aging milk thistle (*Silybum marianum*) seeds. Electrical Journal of Crop Production, 7(4): 223-234. [In Persian with English Summary].

Rashidi, S., Abbas Dokht, H. and Hholami, A. 2017. Effect of gibberellin and cytokinin on improvement of germination traits and degraded seeds of corn cultivars. Journal of Medicinal Plants Physiology, 9(34) 79-96. [In Persian with English Summary].

Rehman, H., Iqbal, H., Basra, S. M.A., Afzal, I., Farooq, M., Wakeel, A. and Ning, W. 2015. Seed priming improves early seedling vigor, growth and productivity of spring maize. Journal Integrative Agriculture, 14(9): 1745-1754. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)61000-5

Rouhi, H.R., Aboutalebian, M.A., Moosavi, S.A., Karimi, F.A.O., Karimi, F., Saman, M. and Samadi, M. 2012. Change in several antioxidant enzymes activity of Berseem clover (*Trifolium alexandrinum* L.) by priming. International Journal of Agricultural Science, 2(3): 237-243. [In Persian with English Summary].

Savaedi, Z., Parmoon, G., Moosavi, S.A., and Bakhshande A.B. 2019. The role of light and gibberellic acid on cardinal temperatures and thermal time required for germination of Charnushka (*Nigella sativa*) seed. Industrial Crops and Products, 132: 140-149. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.025

Siadat, S.A., Moosavi, S.A. and Sharifzadeh, M. 2015. Alleviate seed ageing effects in *Silybum marianum* by application of hormone seed priming. Notulae Scientia Biologicae, 7(3): 316-321. https://doi.org/10.15835/nsb739528 ; https://doi.org/10.15835/nsb.7.3.9528

Tavakol Afshari, R., Rashidi, S. and Alizadeh, H. 2009. Effect strong on seed germination and activities of catalase and peroxidase enzymes in the initial stages of germination of two cultivars of rapeseed (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Crop Sciences, 2: 125-133. [In Persian with English Summary].

Varier, A., Vari, A.K. and Dadlani, M. 2010. The subcellular basis of seed priming. Current Science, 99(4): 450-456.

Verma, S. K., Bjpai, G.C., Tewari, S.K. and Singh, J. 2005. Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeon pea. Legume Research, 28(2): 143-145.

Xia, F., Wang, X., Li, M. and Mao, P. 2015. Mitochondrial structural and antioxidant system responses to aging in oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture contents. Plant Physiology and Biochemistry, 94: 122-129. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.06.002

Zhang, M., Wang, Z., Yuan, L., Yin, C., Cheng, J., Wang, L., Huang, J. and Zhang, H. 2014. Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. African Journal of Biotechnology, 11(23): 6305-6311.