فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و دوم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۷۵-۸۹/ پاییز و زمستان ۱۴۰۱
DOI: 10.22084/PPT.2023.26100.2075

تأثیر پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان، روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری

The Effect of Priming with Different Levels of Chitosan on Physiological and Biochemical Traits in French Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Under Salinity Stress

هانیه سعادت[۱]، محمد صدقی[۲*]، رئوف سیدشریفی[۳] و سلیم فرزانه[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۳
(مقاله پژوهشی)

چکیده

پرایمینگ، بذرها را پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با تنش شوری، از لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آماده جوانه‌زنی می‌کند. به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کیتوزان روی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در لوبیا چیتی رقم صدری تحت تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارها شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و چهار سطح کیتوزان (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری درصد جوانه‌زنی را کاهش و میانگین مدت جوانه‌زنی و وزن خشک باقی‌مانده بذر را افزایش داد. کیتوزان باعث کاهش تأثیر شوری و بهبود درصد جوانه‌زنی و درصد رطوبت گیاهچه گردید. با افزایش شوری میزان SRUR، SRUE و DUSR کاهش یافتند. بیش‌ترین و کم‌ترین SRUR، DUSR و SR به‌ترتیب از کاربرد سطوح شوری ۵۰ و۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. میزان SRUR، SRUE و DUSR در پرایمینگ با کیتـوزان ۰/۷۵ نسبت به شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) به‌ترتیب در حدود ۱۰/۴، ۹/۶ و ۷/۲ درصد بیش‌تر بود. میزان کاهش SRRE و SR نیز نسبت به تیمار شاهد بدون شوری به‌ترتیب ۱۳/۴ و ۸/۳ درصد بود. هم‌چنین، میزان پروتئین و فیتین در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری صفر میلی‌مولار نسبت به شاهد به‌ترتیب در حدود ۳۰ و ۴۷ درصد افزایش نشان داد. در کل، پیش‌تیمار بذر با غلظت‌های مناسب کیتوزان به‌ویژه کیتوزان ۰/۷۵ درصد به‌عنوان بهبوددهنده رشد و کاهنده اثرات نامطلوب شوری در گیاه لوبیا می‌تواند مطرح باشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، تحرک ذخایر بذر، درصد آب میان بافتی گیاهچه، فیتین، کلرید سدیم

۱، ۲، ۳ و ۴. به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادان و دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
*: نویسنده مسئول Email: m_sedghi@uma.ac.ir
مقاله مستخرج از رساله دکتری نویسنده اول به راهنمایی آقای محمد صدقی می‌باشد.

مقدمه

حبوبات از مهم‌ترین گیاهان زراعی مورد تغذیه انسان و دام به‌شمار می‌روند. در بین حبوبات، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به جهت دارا بودن بیش‌ترین سطح زیر کشت و تولید در جهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (مجنون حسینی، ۱۳۹۳). تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده محیطی هست که رشد و تولید در گیاهان را با محدودیت مواجه می‌کند، موجب آسیب جدی به گیاهان می‌شود، تهدیدی جدی برای امنیت غذایی به‌شمار می‌رود و تأثیر مهمی بر زندگی انسان در مناطق خشک و نیمه‌خشک دارد (*میکلبرت*[1] و همکاران، 2015؛ *ال عسگر*[2] و همکاران، 2019). اثرات منفی غلظت‌های بالای نمک به‌صورت تأخیر در رشد و نمو گیاه و مهار فعالیت‌های آنزیمی مشاهده می‌شود. تنش شوری از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن، به تنش اکسیداتیو منجر می‌شود (*یساینکو*[3]، 2012). یکی از اثرات اولیه شوری کاهش مقدار آب بافت گیاهی می‌باشد. کاهش دسترسی به آب می‌تواند، در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک در ناحیه توسعه ریشه اتفاق بیفتد (قنبری و کرم‌نیا، ۱۳۹۵). افزایش سطوح تنش شوری از طریق تجمع انواع گونه‌های اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بر جوانه‌زنی و شاخص‌های مرتبط با آن و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی در بذر لوبیا، تأثیر منفی می‌گذارد و در نهایت موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی می‌گردد (*قنبری*[4] و همکاران، 2019). پرایمینگ بذر به بیش‌تر گیاهان زراعی کمک می‌کند تا آثار سوء تنش غیرزیستی را خنثی کنند (*زنگ*[5] و همکاران، 2012؛ *جیشا*[6] و همکاران، 2013؛ *جیشا و پیتر*[7]، 2016). پرایمینگ در واقع «متابولیسم قبل از جوانه‌زنی» را فعال می‌کند که شامل طیف وسیعی از رخدادهای فیزیولوژیکی است که مسیرهای ترمیم DNA و سیستم‌های اصلاح گونه‌های فعال اکسیژن را فعال می‌کند که موجب پاسخ به اصلاح بذور می‌شود و به حفظ یک‌پارچگی ژنوم کمک می‌کند (*پاپارل*[8] و همکاران، 2015). *شیوکلا*[9] و همکاران (2018) اظهار کردند که پرایمینگ مکانیسمی است که با تغییر خصوصیات نفوذپذیری غشاءها و آنزیم‌ها، توانایی جوانه‌زنی بذور را کنترل می‌کند. در کشاورزی کاربرد کیتوزان به‌عنوان استخراج‌گر زیستی در بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی محصول گیاهان زراعی مطرح شده است (*امامی*[10]، 2017؛ *کرینی*[11] و همکاران، 2019؛ *شریف*[12] و همکاران، 2018). این ترکیب با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش سازگاری گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود (*ال-تنتاوی*[13]، 2009). کیتین با نام شیمیایی β-D (1-4) N- acetyl- glucosamineβ است پس از تجزیه‌شدن، به نام کیتوزان با نام علمی β-D (1-4) -2- amino- 2- deoxy- α- glucan تبدیل می‌شود، که به‌واسطه حذف گروه استیلی و ایجاد گروه آمینی، خاصیت بازی پیدا کرده و یک پلیمر جداگانه با خواص فیزیکی و شیمیایی متفاوت محسوب می‌شود. کیتوزان، رشد گیاه، جوانه‌زنی و قدرت گیاه را افزایش می‌دهد و دریافت مواد غذایی را تحریک می‌کند (*دزانگ* و *تانگ*[14]، 2004؛ *دزانگ*[15]، 2005؛ *لیمپاناویچ*[16] و همکاران، 2008). کیتوزان از طریق فعال‌نمودن تعدادی از آنزیم‌های نظیر فیتواکسین و کیتینازها مقاومت گیاه را در برابر تنش‌ها افزایش و آسیب‌های ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد (*آگراول*[17] و همکاران، 2002؛ *زاو*[18] و همکاران، 2011). بررسی اثر کاربرد کیتوزان بر جوانه‌زنی سویا در شرایط تنش شوری نشان داد که برهم‌کنش پیش‌تیمار کیتوزان و تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی، تعداد گیاهچه‌های عادی و صفات فیزیولوژیک گیاهچه سویا معنی‌دار بود (منصوری گندمانی، ۱۳۹۵). مطالعه‌ی اثرات کیتوزان روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه در گندم نشان داد که نانوذرات کیتوزان به‌دلیل جذب بیش‌تر بذر گندم، بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گندم تأثیر مثبتی دارد (*رویکسین*[19] و همکاران، 2019). هم‌چنین، اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر گلرنگ در شرایط تنش کم‌آبی نشان داد با افزایش تنش، شاخص جوانه‌زنی و محتوی پروتئین کاهش یافت و کیتوزان باعث بهبود صفات ذکر شده گردید (مهدوی و همکاران، ۱۳۹۲).

هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثر سطوح مختلف کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی و تحت تنش شوری بر میزان صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا جهت تعدیل اثرات سوء ناشی از تنش شوری بود.

1. Mickelbart
2. Al-Ashkar
3. Isayenkov
4. Ghanbari
5. Zhang
6. Jisha
7. Jisha and Puthur
8. Paparella
9. Shukla
10. Emami
11. Crini
12. Sharif
13. El-Tantawy
14. Dzung and Thang
15. Dzung
16. Limpanavech
17. Agrawal
18. Zhao
19. Ruixin

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و چهار سطح کیتوزان صفر (آب مقطر)، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی) بود که همه در اسید استیک یک درصد حل شده بودند.

برای تهیه محلول‌های کیتوزان از پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین از شرکت سیگما آلدریچ آلمان استفاده شد. ابتدا بذرها درون محلول‌های پرایمینگ و آب مقطر به‌مدت ۱۲ ساعت غوطه‌ور شدند. بعد از پرایمینگ، بذرها به‌وسیله آب مقطر شستشو شدند و در دمای آزمایشگاه خشک گردیدند. سپس، آزمون جوانه‌زنی استاندارد روی بذرها انجام شد. آزمون جوانه‌زنی به روش حوله کاغذی در سه تکرار ۵۰ بذری در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به‌مدت هفت روز انجام گرفت. در این روش، از کاغذهای صافی (Boeco-Germany) اندازه ۵۸×۵۸ استفاده شد. ۵۰ عدد بذر به‌صورت ردیفی روی یک لایه از کاغذ صافی قرار گرفت و به هر کاغذ صافی محلول شوری (کلرید سدیم) با سطوح مختلف (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰) اضافه شد و سپس، کاغذ صافی دیگری روی بذور گذاشته شد. لبه پایینی کاغذها به عرض ۴-۳ سانتی‌متر تا گردید و از لبه کناری به شکل لوله پیچانده شد و به‌صورت عمودی به داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شد. شمارش بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه و به‌مدت ۷ روز انجام گردید. برای خشک کردن گیاهچه‌ها از آون استفاده شد. به این صورت که نمونه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری وزن خشک از ترازو با دقت یک‌هزارم و برای محاسبه شاخص‌های موردمطالعه از روابط زیر استفاده شد (*صدقی*[1] و همکاران، 2010؛ *کاپلند و مکدونالد*[2]، 2001؛ امیدی و همکاران، ۱۳۹۴؛ *تسونو*[3] و همکاران، 1998).

سرعت جوانه‌زنی، رابطه ۱:

$$GR = \sum_{i=1}^{N} Si / Di$$

Si: تعداد بذور جوانه‌زده در هر روز، Di: تعداد روز تا شمارش nام

میانگین مدت جوانه‌زنی، رابطه ۲:

$$MGT = \Sigma (Ni) / \Sigma N$$

N: تعداد دفعات شمارش، Ni: تعداد بذر جوانه‌زده در روز D

درصد رطوبت گیاهچه، رابطه ۳:

$$STWP = SFW - SDW / SFW \times 100$$

مقدار استفاده از ذخایر، رابطه ۴:

$$SRUR = SDW - RSDW$$

SDW: وزن خشک اولیه بذر (گرم)، RSDW: وزن خشک باقی‌مانده بذر برحسب گرم (بدون ریشه‌چه و ساقه‌چه)

کارایی استفاده از ذخایر، رابطه ۵:

$$SRUE = SFDW / SRUR$$

SFDW: مجموع وزن خشک و تر گیاهچه برحسب گرم (ریشه‌چه + ساقه‌چه)، SRUR: مقدار استفاده از دخایر بذر

تحرک ذخایر بذر، رابطه ۶:

$$SRRE = (PDW + RDW)/SR$$

PDW: وزن خشک ساقه‌چه، RDW: وزن خشک ریشه‌چه و SR: شاخص تنفس بذر

کسر ذخایر مصرف، رابطه ۷:

$$FUSR = SRUR / SDW$$

SRUR: مقدار استفاده از ذخایر بذر و SDW: وزن خشک اولیه بذر (گرم)

شاخص تنفس بذر، رابطه ۸:

$$SR = SDW - (PDW + RDW + RSDW)$$

SDW: وزن خشک اولیه بذر (گرم)، PDW: وزن خشک ساقه‌چه، RDW: وزن خشک ریشه‌چه و RSDW: وزن خشک باقی‌مانده بذر برحسب گرم (بدون ریشه‌چه و ساقه‌چه)

اندازه‌گیری میزان پروتئین

برای استخراج پروتئین کل از ساقه‌چه از روش *برادفورد*[4] (1976) استفاده شد. جهت تهیه معرف پروتئین برادفورد ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلوجی در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت زمان حداقل یک ساعت حل و پس از آن، ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به آن اضافه شد و با آب مقطر حجم محلول به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای حذف ذرات معلق، محلول از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد. در نهایت ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد همراه با ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی مخلوط و میکسر شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. عدد حاصل بر اساس میلی‌گرم در گرم وزن نمونه بذری محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان فیتین

روش *لاتا* و *اسکین*[5] (1980) برای اندازه‌گیری اسید فیتیک به‌کار گرفته شد. به‌منظور استخراج، یک نمونه گیاهی ۵۰۰

1. Sedghi
2. Copeland and McDonald
3. Tsonev
4. Bradford
1. Latta and Eskin

میلی‌گرم با ۲۰ میلی‌لیتر ۲/۴HCL درصد (۰/۶۵N) به‌مدت ۲ ساعت و در دمای اتاق بر روی روتاری شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. پس از طی زمان موردنظر، عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در 10000 g سانتریفیوژ شد و بخش روشناور از ظرف خارج شد و توسط کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۱۸ میلی‌لیتر از آب مقطر رقیق شد و نمونه رقیق شده از میکروفیلتر AG1- X8 200-400 حاوی آنیون کلراید عبور داده شد. فسفر غیرآلی به‌وسیله ۰/۰۷ NaCl مول و فیتات نیز با استفاده از ۰/۷ NaCl مول شسته شد و پاک گردید. مقدار فیتات به روش رنگ‌سنجی و بر پایه رنگ صورتی معرف Wade اندازه‌گیری شد. این روش بر اساس واکنش یون فریک و اسید سولفوسالیسیلیک است که حداکثر جذب را در طول‌موج ۵۰۰ نانومتر دارد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام و میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ پنج درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نتایج پژوهش نشان داد که اثر متقابل کیتوزان و شوری بر روی سرعت جوانه‌زنی، میانگین مدت جوانه‌زنی، درصد رطوبت گیاهچه، پروتئین، فیتین و اثر ساده کیتوزان و شوری بر روی وزن خشک باقی‌مانده بذر، مقدار استفاده از ذخایر، کارایی استفاده از ذخایر، کارایی تحرک ذخایر، کسر ذخایر مصرف و شاخص تنفس بذر در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

سرعت جوانه‌زنی

بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۴۱/۳ بذر در روز) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون تنش شوری حاصل شد و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۲۷/۴ بذر در روز) در تیمار شاهد (آب مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۱).

میانگین مدت جوانه‌زنی

بیش‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۰/۰۳۷) در شاهد (بدون کیتوزان با آب مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود. و کم‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۰/۰۲۴) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهد شد. (شکل ۲).

درصد رطوبت گیاهچه

بیش‌ترین درصد رطوبت گیاهچه (۹۲/۸۲) به پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۵۰ درصد و بدون شوری تعلق داشت و کم‌ترین درصد رطوبت گیاهچه (۸۹/۹۰) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۲۵ درصد شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهد شد (شکل ۳).

وزن خشک باقی‌مانده بذر

بیش‌ترین وزن خشک باقی‌مانده بذر (۶/۹۳ گرم) در شاهد (بدون کیتوزان) و کم‌ترین آن (۷/۸۰ گرم) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد بود. با افزایش شوری وزن خشک باقی‌مانده بذر افزایش یافت. به‌طوری‌که، بیش‌ترین وزن خشک باقی‌مانده در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار (۷/۹۷ گرم) و کم‌ترین آن (۶/۷۷ گرم) در شاهد (شوری صفر) بود (شکل ۴-A و ۴-B).

مقدار استفاده از ذخایر بذر SRUR

بیش‌ترین SRUR (۱۳/۷۰ میلی‌گرم در بذر) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین آن (۱۲/۲۸ میلی‌گرم در بذر) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۲۵ درصد مشاهده گردید. این صفت با تشدید شوری کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین آن در شوری ۵۰ میلی‌مولار (۱۳/۵۳ میلی‌گرم در بذر) و کم‌ترین آن (۱۲/۳۸ میلی‌گرم در بذر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴-C و ۴-D).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر کیتوزان و شوری بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا چیتی رقم صدری

Table 1: Analysis of variance for the effect of chitosan and salinity on studied traits in common bean

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square				
		سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین مدت جوانه‌زنی Mean germination time	وزن خشک باقی‌مانده بذر Residual seed dry weight	درصد رطوبت گیاهچه Seedling moisture percentage	مقدار استفاده از ذخایر بذر Seed reserves utilization rate
کیتوزان (C) Chitosan (C)	3	122.769**	0.00010154**	2.192**	2.176**	6.092*
شوری (S) Salinity (S)	3	97.515**	0.00008923**	4.406**	13.278**	3.856^{ns}
کیتوزان × شوری C × S	9	5.385**	0.00000164*	0.028^{ns}	0.823**	1.216^{ns}
خطای آزمایشی Experimental error	48	0.801	0.00000080	0.164	0.2501	1.509
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	2.815	2.820	5.495	0.546	9.574

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Indicating not significant, significant differences at 5% and 1% probability levels

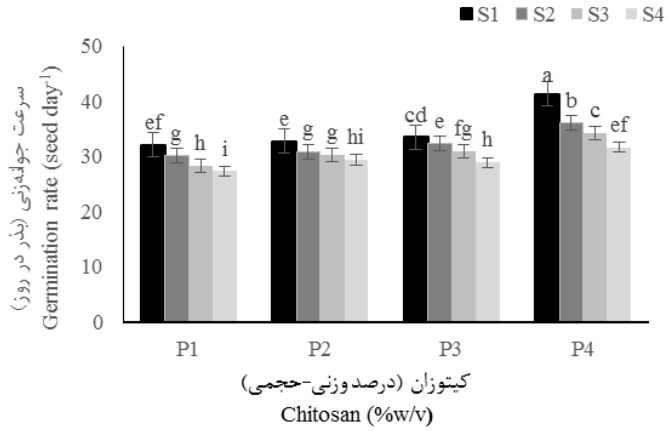
ادامه جدول ۱: تجزیه واریانس اثر کیتوزان و شوری بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا چیتی رقم صدری

Table 1 Coun.: Analysis of variance for the effect of Chitosan and Salinity on studied traits in Common bean

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square				
		کارایی استفاده از ذخایر بذر Seed reserve utilization efficiency	کارایی تحرک ذخایر بذر Deduction of used seed reserves	کسر ذخایر مصرف شده Fraction of seed reserves	شاخص تنفس بذر Seed respiration index	پروتئین Protein	فیتین Phityn
کیتوزان (C) Chitosan (C)	3	0.0407*	0.00016391^{ns}	0.00761269**	5.002*	3546.665**	15.156**
شوری (S) Salinity (S)	3	0.4651*	0.00061469**	0.00814511**	3.380^{ns}	2910.871**	10.560**
کیتوزان × شوری C×S	9	0.0165^{ns}	0.00012982^{ns}	0.00060772^{ns}	1.212^{ns}	45.204*	0.335**
خطای آزمایشی Experimental error	48	0.0167	0.00013631	0.00079067	1.517	22.593	0.114
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	11.217	12.182	4.433	10.509	2.770	4.735

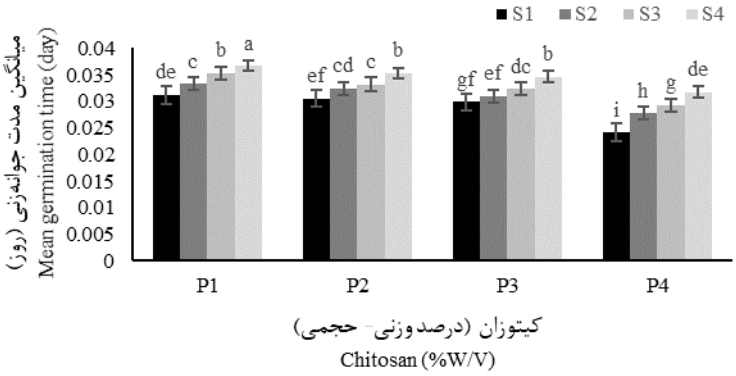
ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: Indicating not significant, significant differences at 5% and 1% probability levels



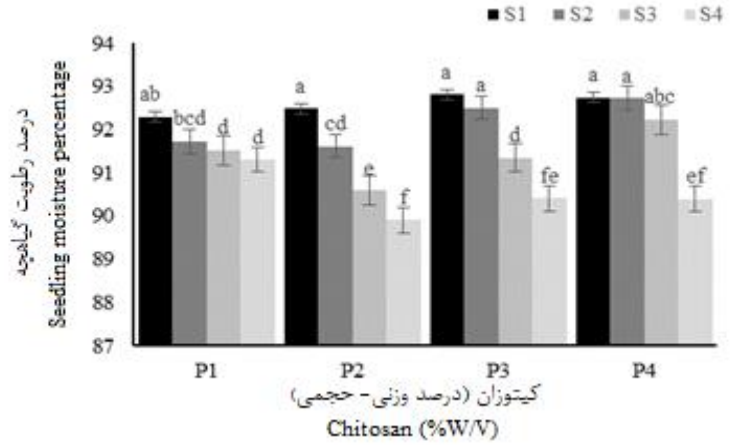
شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بر روی سرعت جوانه‌زنی در لوبیا، P1: کیتوزان صفر، P2: کیتوزان ۰/۲۵ درصد، P3: کیتوزان ۰/۵۰ درصد، P4: کیتوزان ۰/۷۵ درصد، S1: بدون شوری، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

Fig. 1: Mean Comparison for the interaction effect of Chitosan (C) and Salinity (S) of Germination Rate in bean, P1, Chitosan 0; P2, Chitosan 0.25%; P3, Chitosan 0.50%; P4, Chitosan 0.75%; S1, without Salinity; S2, Salinity 50; S3, Salinity 100; S4, Salinity 150



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بر روی میانگین مدت جوانه‌زنی در لوبیا، P1: کیتوزان صفر، P2: کیتوزان ۰/۲۵ درصد، P3: کیتوزان ۰/۵۰ درصد، P4: کیتوزان ۰/۷۵ درصد، S1: بدون شوری، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

Fig. 2: Mean Comparison for the interaction effect of Chitosan (C) and Salinity (S) of Mean germination timei in bean, P1, Chitosan 0; P2, Chitosan 0.25%; P3, Chitosan 0.50%; P4, Chitosan 0.75%; S1, without Salinity; S2, Salinity 50; S3, Salinity 100; S4, Salinity 150



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بر روی درصد رطوبت گیاهچه در لوبیا، P1: کیتوزان صفر، P2: کیتوزان ۰/۲۵ درصد، P3: کیتوزان ۰/۵۰ درصد، P4: کیتوزان ۰/۷۵ درصد، S1: بدون شوری، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

Fig. 3: Mean Comparison for the interaction effect of Chitosan (C) and Salinity (S) of Seedling Moisture Percentage in bean, P1, Chitosan 0; P2, Chitosan 0.25%; P3, Chitosan 0.50%; P4, Chitosan 0.75%; S1, without Salinity; S2, Salinity 50; S3, Salinity 100; S4, Salinity 150

کارایی استفاده از ذخایر بذر SRUE

بیش‌ترین SRUE آن (۱/۲۲ میلی‌گرم در میلی‌گرم) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین (۱/۱۱ میلی‌گرم در میلی‌گرم) از شاهد (آب مقطر) مشاهده گردید. مقادیر این صفت با تشدید شوری کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین آن در شاهد (بدون شوری) (۱/۳۷ میلی‌گرم در میلی‌گرم) و کم‌ترین آن (۰/۹۶ میلی‌گرم در میلی‌گرم) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴ -E و ۴-F).

کارایی تحرک ذخایر بذر SRRE

بیش‌ترین SRRE در شاهد (بدون شوری) (۰/۱۰۴۵۲۴ گرم در گرم) و کم‌ترین آن (۰/۰۹۰۶ گرم در گرم) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴-G).

کسر ذخایر مصرف DUSR

بیش‌ترین DUSR آن (۰/۶۶۵ میلی‌گرم در میلی‌گرم) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین (۰/۶۱۷ میلی‌گرم در میلی‌گرم) از شاهد (آب مقطر) مشاهده گردید. و این صفت با تشدید شوری کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین آن در شوری ۵۰ میلی‌مولار (۰/۶۵۴ میلی‌گرم در میلی‌گرم) و کم‌ترین آن (۰/۶۰۶ میلی‌گرم در میلی‌گرم) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴-H و ۴-I).

شاخص تنفس بذر SR

بیش‌ترین SR (۱۲/۴۹ میلی‌گرم) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین آن (۱۱/۱۷ میلی‌گرم) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۲۵ درصد مشاهده گردید و این صفت با تشدید شوری کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین آن در شوری ۵۰ میلی‌مولار (۱۲/۳۹ میلی‌گرم) و کم‌ترین آن (۱۱/۳۶ میلی‌گرم) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴ -J و ۴-K).

میزان پروتئین

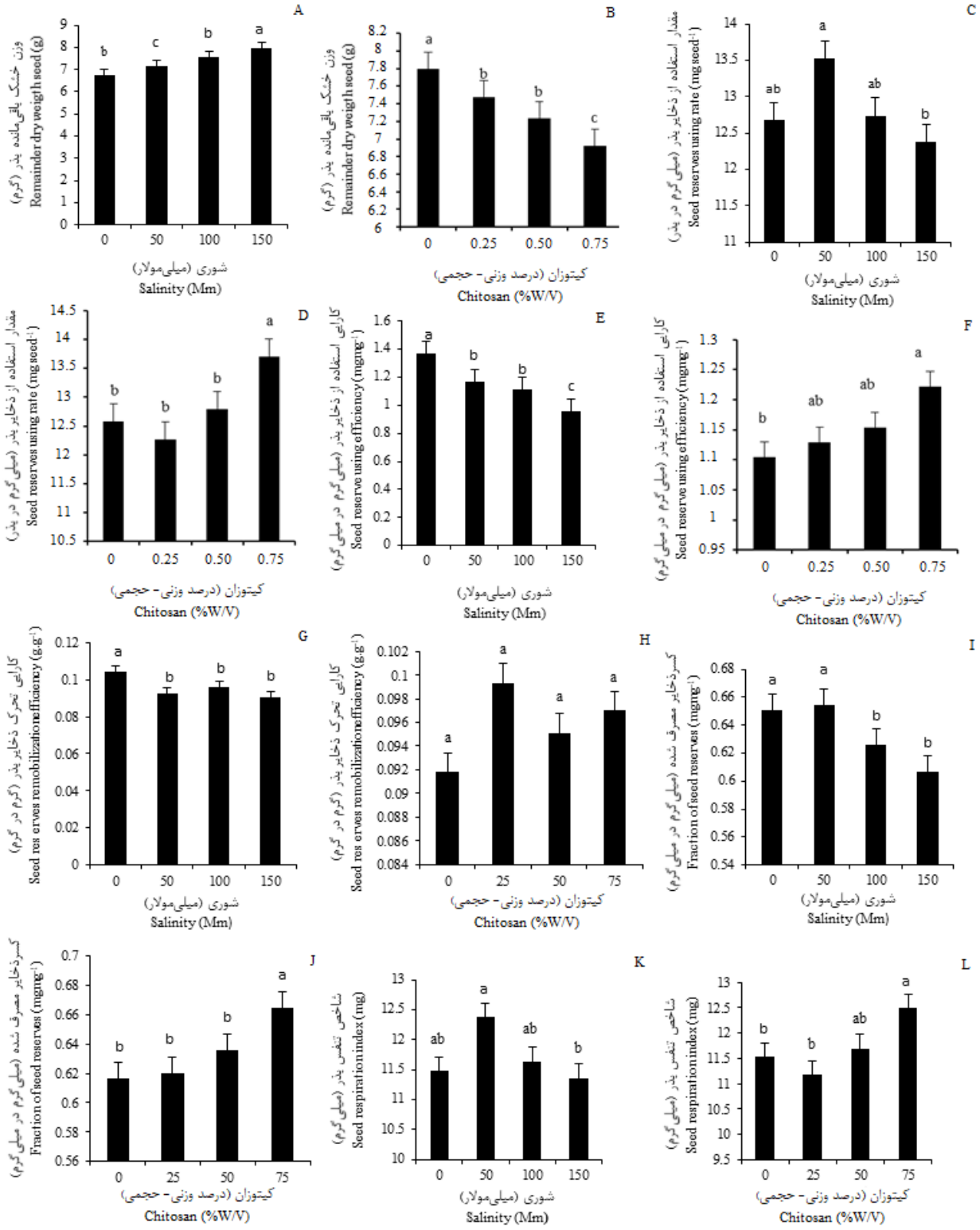
بیش‌ترین پروتئین (۲۰۰/۲۵ میلی‌گرم در گرم) از پیش تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری صفر میلی‌مولار (شاهد) و کم‌ترین آن (۱۴۲/۲۶ میلی‌گرم در گرم) در شاهد (آب مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. (شکل ۵).

میزان فیتین

بیش‌ترین فیتین (۸/۹۶ میلی‌گرم در میلی‌گرم وزن خشک) از پیش‌تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری صفر میلی‌مولار (شاهد) و کم‌ترین آن (۴/۷۷ میلی‌گرم در میلی‌گرم وزن خشک) در شاهد (آب مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. (شکل ۶).

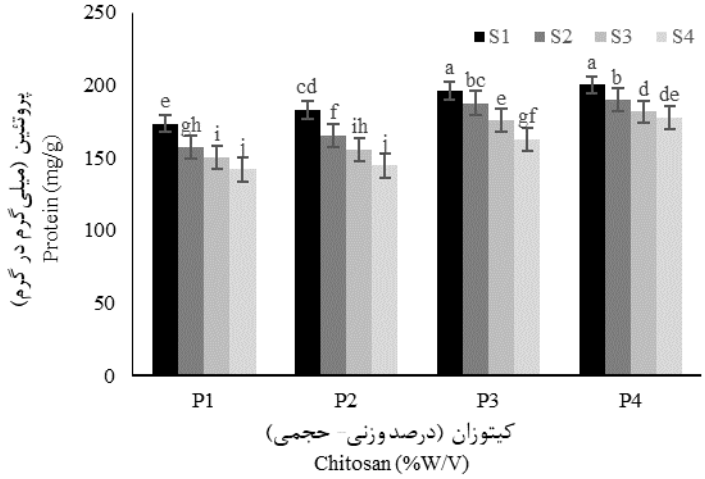
در این آزمایش، پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی شد. هم‌چنین، افزایش غلظت کلرید سدیم سرعت جوانه‌زنی بذرها را به شدت کاهش و میانگین مدت جوانه‌زنی را افزایش داد. کاهش سرعت جوانه‌زنی همراه با افزایش غلظت نمک کلرید سدیم در این آزمایش می‌تواند ناشی از تنش خشکی فیزیولوژیک باشد. تنش خشکی فیزیولوژیکی باعث کاهش کلیه شاخص‌های رشد به دلیل کاهش سرعت اولیه جذب آب می‌گردد (عطاردی و همکاران، ۱۳۹۰). در واقع شوری با ایجاد پتانسیل اسمزی خارجی منفی‌تر (محیط اطراف بذر) از نفوذ آب به داخل بذرها جلوگیری می‌کند و در نتیجه باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد اولیه بذرها می‌شود. هم‌چنین ممکن است غلظت بالای یون‌های سدیم و کلر موجود در نمک کلرید سدیم مسموم شدن بذرها را سبب شود و اجازه نفوذ آب به آن‌ها را ندهد (شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۹). در غلظت‌های بالای نمک، سمیت یونی باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی می‌شود. سمیت یونی، به خاطر افزایش جذب یون‌ها مخصوصاً سدیم و کلرید، عدم تعادل عناصر (*ال-انصاری*[1] و همکاران، 2003) و نیز تشکیل رادیکال‌های آزاد (*تیموتی*[2]، 2001)، منجر به آسیب و تخریب سلول‌های مریستمی شده که باعث کاهش جوانه‌زنی و رشد می‌شود. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی صورت می‌گیرد و در نتیجه آن مدت زمان خروج ریشه‌چه از بذر افزایش و از این‌رو سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (*مانچاندا* و *گارگ*[3]، 2008). در این آزمایش، علت بهبود در سرعت جوانه‌زنی در پرایمینگ با کیتوزان تحت تنش می‌تواند به دلیل، افزایش در فعالیت‌های تنفسی، تولید ATP، تحریک فعالیت RNA و پروتئین‌سازی در بذرهای پرایم شده باشد.

1. Al-Ansari
2. Timothy
3. Manchanda and Garg



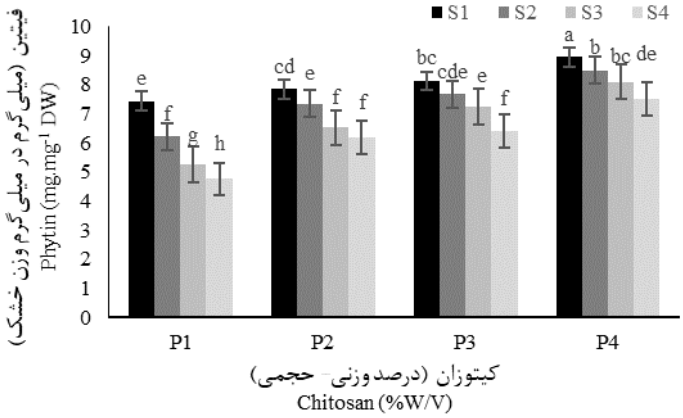
شکل ۴: مقایسه میانگین اثرات ساده پیش‌تیمار کیتوزان و تنش شوری بر روی صفات مطالعه شده در لوبیا. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار است.

Fig. 4: Mean Comparison for the effect of Chitosan (C) and Salinity (S) on studied traits in Common bean. The different letters in each column indicate significant differences



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بر روی پروتئین در لوبیا، P1: کیتوزان صفر، P2: کیتوزان ۰/۲۵ درصد، P3: کیتوزان ۰/۵۰ درصد، P4: کیتوزان ۰/۷۵ درصد، S1: بدون شوری، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

Fig. 5: Mean Comparison for the interaction effect of Chitosan (C) and Salinity (S) of Protein in bean, P1, Chitosan 0; P2, Chitosan %0/25; P3, Chitosan %0/50; P4, Chitosan %0/75; S1, without Salinity; S2, Salinity 50; S3, Salinity 100; S4, Salinity 150



شکل ۶: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و شوری بر روی فیتین در لوبیا، P1 : کیتوزان صفر، P2: کیتوزان ۰/۲۵ درصد، P3: کیتوزان ۰/۵۰ درصد، P4: کیتوزان ۰/۷۵ درصد، S1: بدون شوری، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

Fig. 6: Mean Comparison for the interaction effect of Chitosan (C) and Salinity (S) of Phytin in bean, P1, Chitosan 0; P2, Chitosan %0/25; P3, Chitosan %0/50; P4, Chitosan %0/75; S1, without Salinity; S2, Salinity 50; S3, Salinity 100; S4, Salinity 150

محققان بیان کردند به دلیل اینکه پیش‌تیمار بذر تأثیر مثبتی بر سرعت جوانه‌زنی بذر در محیط‌های شور دارد موجب می‌شود بذر کم‌تر تحت‌تأثیر سمیت نمک و کمبود آب قرار گرفته و از این طریق باعث بهبود سرعت جوانه‌زنی تحت تنش شوری می‌شود (*اشرف* و *فولاد*[1]، 2005). کیتوزان از طریق افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی از آسیب دیدن جلوگیری می‌کند. به نظر می‌رسد دلیل بالا بودن سرعت جوانه‌زنی در خصوص آزادسازی آنزیم‌های تجزیه‌کننده کربوهیدرات و پروتئین در داخل بذر باشد (*اشرف* و همکاران، 2008) .که این نتایج با تحقیق، افزایش سرعت جوانه‌زنی با کیتوزان تحت تنش شوری در آفتابگردان مطابقت دارد (*احمد* و *جابین*[2]، 2009). تنش شوری از طریق نفوذ یون‌های خارجی و نشت محلول‌های سیتوسولی و مواد الکترولیت از سلول‌های گیاهی بر کارایی دیواره و غشای سلولی و هم‌چنین پایداری غشای پلاسمایی اثر منفی داشته و بدین طریق موجب کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی در بذور می‌گردد (عیسی‌وند و مداح عارف، ۱۳۸۶). برخی از پژوهشگران علت کاهش میانگین را ناشی از بروز اختلالات رشدی و کوچک شدن غیرطبیعی سطح در مرحله جوانه‌زنی حاصل از تنش شوری عنوان کرده‌اند (*قنبری* و همکاران، 2019). بهبود میانگین مدت جوانه‌زنی در

1. Ashraf and Foolad

2. Ahmad and Jabeen

بذرهای پرایم شده با کیتوزان ممکن است ناشی از برهم‌کنش بین رادیکال‌های آزاد و سنتز مجدد آنزیم‌های متصل به غشاء باشد (*سرینیواسن*[1] و همکاران، 1991). در بذور پرایم شده، تغییرات متابولیک و بیوشیمیایی به نفع جوانه‌زنی تحقق می‌یابد. برای مثال، در این بذور بخشی از پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها در اثر آنزیم‌ها و واکنش‌های هیدرولیزکننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند. این مساله می‌تواند توجیهی برای تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی باشد (*بیتنکورت*[2] و همکاران، 2005). یکی از علل دیگر کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی به واسطه تیمارهای پرایمینگ، افزایش فعالیت‌های متابولیکی و نیز افزایش سرعت تقسیم سلولی در نوک ریشه بذرهای پرایم شده بود که این فرضیات در تحقیقی که روی بذر برنج انجام گرفته، نشان داده شده است (*بصرا*[3] و همکاران، 2002). در این تحقیق درصد آب میان بافتی گیاهچه نیز با افزایش شوری کاهش و پرایمنگ باعث بهبود آن شد (شکل ۳). پژوهشگران در بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی دریافتند که هرچند تنش شوری پتانسیل آماس سلول را تغییر نداده ولی با افزایش سطوح تنش شوری و تجمع یون‌های سدیم و کلر در بافت گیاهچه را عامل کاهش محتوای آب نسبی گیاهچه عنوان کردند (*کریکک و کاکیرلار*[4]، 2002؛ *ملونی*[5] و همکاران، 2003؛ *مونس*[6] و همکاران، 2006).

البته، افزایش محتوای نسبی آب در سطوح بالای تنش شوری می‌تواند به این علت باشد که گیاه جهت سنتز محلول‌های سازگار در شرایط تنش شوری، بخشی از منابع کربوهیدراتی خود را جهت ساختن این محلول‌ها مصرف می‌کند و در نتیجه با ایجاد پتانسیل اسمزی درون سلولی منفی و افزایش جذب آب و رقیق‌سازی نمک‌های موجود در گیاه، نوعی سازگاری در شرایط تنش شوری برقرار می‌کند، هرچند که این کار برای گیاه پرهزینه محسوب می‌شود (*خان*[7] و همکاران، 2002). اثر پرایمینگ بر محتوای نسبی آب معنی‌دار بوده و با افزایش سطوح پرایمینگ بر محتوای نسبی آب افزوده می‌شود (شکاری و همکاران، ۱۳۸۹). که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت داشت. پرایمینگ از طریق افزایش قابلیت دسترسی به ATP، افزایش میزان یک‌پارچگی غشای سلولی، تغییر برخی از اجزای غشاء مانند اسیدهای چرب و جلوگیری از نشت مواد به خارج از بذر در طول پرایمینگ بذر و در نتیجه افزایش توان رشدی گیاهچه موجب افزایش محتوای نسبی آب گیاهچه می‌گردد (*مازور*[8] و همکاران، 1984). هم‌چنین نتایج این بررسی نشان داد پرایمینگ با کیتوزان مقدار استفاده از ذخایر بذر، کارایی استفاده از ذخایر بذر، کارایی تحرک ذخایر بذر، کسر ذخایر مصرف و شاخص تنفس بذر را افزایش و تنش شوری باعث کاهش این صفات گردید (شکل ۴). کاهش این صفات در نتیجه شوری می‌تواند به‌دلیل کاهش فعالیت هورمون جیبرلین و کاهش سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیک در فرآیند جوانه‌زنی باشد (*سلطانی*[9] و همکاران، 2006). هدف از مقدار استفاده از ذخایر بذر، رشد گیاهچه و تبدیل ذخایر بذر به ساختار گیاهچه می‌باشد. استفاده از ذخایر بذر، بیانگر میزانی از ذخایر بذر بوده که در جریان جوانه‌زنی صرف تنفس گشته و در نهایت به‌صورت وزن خشک گیاهچه ظاهر می‌گردد. به عبارت دیگر، هرچه گیاهچه حاصل از بذر وزن خشک بیش‌تری داشته باشد، اتلاف تنفسی ذخایر کم‌تر و کارایی تبدیل آن به مواد ساختمانی بیش‌تر خواهد بود. در نتیجه کاهش وزن خشک گیاهچه می‌تواند به دلیل کاهش میزان مصرف ذخایر بذر یا کاهش کارایی استفاده از ذخایر بذر باشد (*سلطانی* و همکاران، 2006). افزایش مقدار استفاده از ذخایر بذر در نتیجه پرایمینگ با کیتوزان می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت هورمون جیبرلین در فرآیند جوانه‌زنی باشد. سلطانی و همکاران (۱۳۸۷) بیان کردند که به احتمال زیاد با کاهش سطح جیبرلین در هنگام جوانه‌زنی بذرهای گندم، از مقدار SRUR و DUSR کاسته می‌شود. کاهش کارایی تحرک ذخایر غذایی ناشی از افزایش شوری می‌تواند. ناشی از افزایش تنفس و تنفس نیز منجر به هدر رفت ذخایر غذایی شده باشد. هورمون‌ها و آنزیم‌های درونی بذر موجب می‌شود تا مواد غذایی اندوخته در بذر ازجمله نشاسته تجزیه و در آب حل شود و از این طریق انرژی لازم برای خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه فراهم گردد. در نتیجه تنفس و مصرف ذخایر غذایی درون بذر، وزن خشک کل زیست توده کاهش می‌یابد (علی‌زاده، ۱۳۸۳). *کائور*[10] و همکاران (2002) گزارش کردند که فعالیت مخزن در بذرهای پرایمینگ شده نخود در مقایسه با شاهد بالاتر بود که این امر از طریق بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ساکارز بود. شوری منجر به کاهش آنزیم آمیلاز می‌شود. آنزیم آمیلاز در زمان تندش موجب شکسته شدن نشاسته در کوتیلدون‌ها می‌شود و با هر گونه کاهش در فعالیت این آنزیم، طبیعتاً سرعت شکستن

1. Srinivasan
2. Bittencourt
3. Basra
4. Cicek and Cakirlar
5. Meloni
6. Munns
7. Khan
8. Mazor
9. Soltani
10. Kaur

ذخایر بذر کند می‌شود (*ساتویر-کائور*[1] و همکاران، 2000). در این آزمایش شوری میزان پروتئین و فیتین را نیز کاهش داد ولی انجام پرایمینگ با کیتوزان باعث افزایش این صفات گردید (شکل‌های ۵ و ۶). تنش شوری باعث کاهش جذب عناصر ضروری و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، در نتیجه باعث تخریب اکسیداتیو DNA و پروتئین شده و کاهش رشد منجر می‌شود (*یزدان‌پناه*[2] و همکاران، 2011). در واقع در شرایط شوری، یون‌هایی مانند Na^+ و Cl^-، به داخل لایه‌های هیدراسیونی پروتئین‌ها نفوذ کرده، سبب اختلال در کار این پروتئین‌ها می‌گردند. هم‌چنین، کاهش میزان پروتئین در غلظت‌های بالای NaCl می‌تواند به دلیل تخریب پروتئین، کاهش سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیزی، کاهش در فراهمی اسیدهای آمینه و یا دناتوره شدن آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین صورت گیرد (*موتوکامراسامی*[3] و همکاران، 2000). البته، کاهش پروتئین ممکن است به دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های نیترات ریداکتاز، گلوتامین سنتتاز و گلوتامین ۲-اگزالوگلوتارات آمینوترانسفراز بر اثر تنش شوری نیز باشد (دولت آبادیان و همکاران، ۱۳۸۷). تنش شوری، بیان ژن‌های کدکننده پروتئازهای درون سلولی را القا می‌کند و سبب تجزیه پروتئین‌ها و تحرک مجدد نیتروژن و متعاقب آن سنتز مواد محلول سازگار می‌گردد. از این‌رو به نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش با کاهش سنتز و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین مرتبط باشد (*پاریدا* و *داسا*[4]، 2005). افزایش در میزان پروتئین محلول در تیمار کیتوزان در مقایسه با تیمار شوری، بدلیل سنتز پروتئین‌های مانند دهیدرین‌ها، پروتئین‌های شوک حرارتی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با سازگاری و تطابق گیاه با تنش می‌باشد که می‌توان به آنزیم‌های ضداکسنده اشاره کرد که در تیمار با کیتوزان به میزان زیادی افزایش می‌یابد. بنابراین، احتمالاً کیتوزان از تخریب پروتئین‌ها توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن جلوگیری می‌کند و در نتیجه باعث و در نتیجه باعث افزایش میزان پروتئین می‌شود (*لاندی*[5] و همکاران، 2019).

در این تحقیق، افزایش پروتئین با کیتوزان با یافته‌های (*مهدوی* و همکاران، ۱۳۹۲) در گلرنگ و (*ونگ*[6] و همکاران، 2012) در کلزا هم‌خوانی داشت. این نتیجه حاکی از آن است که کیتوزان توانسته است مانع از تجمع یون‌های سدیم در سیتوزول شود. این پاسخ را باید در اثر کیتوزان بر فعالیت پمپ‌های SOS1 جستجو کرد که نیاز به مطالعه بیش‌تری در آینده دارد. فیتین شکل اصلی ذخیره فسفر در بذر است که در ترکیب با نمک‌های کاتیون‌های فلزی مانند پتاسیم، منیزیم، آهن و روی دیده می‌شود. فیتین بر روی کیفیت بذر اثرگذار است و این ماده اثر ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانت دارد (*مورفی*[7] و همکاران، 2001). درکل، تغییراتی که طی پرایمینگ رخ می‌دهد شامل ترمیم غشاءها، افزایش سنتز پروتئین، فیتین و پویایی بالاتر ذخایر قندی و پروتئینی هستند (*سرینیواسن* و همکاران، 1999؛ *بیتنکورت* و همکاران، 2005).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که در بین تیمارهای مورد مطالعه، تیمار بذر با کیتوزان ۰/۷۵ درصد مؤثرترین روش برای بهبود صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا محسوب می‌شود و می‌تواند اثرات مضر تنش شوری را بر برخی صفات در گیاهچه کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

1. Satvir-Kaur
2. Yazdanpanah
3. Muthukumarasamy
4. Parida and Das
5. Landi
6. Wang
7. Murphy

منابع

امیدی، ح.، جعفرزاده، ل. و نقدی بادی، ح. ۱۳۹۴. بذر گیاهان دارویی و زراعی. جلد ۱، انتشارات دانشگاه شاهد، تهران، ۴۶۰ صفحه.

دولت آبادیان، آ.، محمد مدرس ثانوی، س. ع. و اعتمادی، ف. ۱۳۸۷. اثر چیش تیماری اسید سالیسیلیک بر جوانه‌رنی بدر گندم در شرایط تنش شوری. مجله زیست‌شناسی ایران، ۴: ۷۰۲-۶۹۲.

سلطانی، ا.، کامکار، ب.، گالشی، س. و اکرم قادری، ف. ۱۳۸۷. اثر فرسودگی بذر بر تخلیه ذخایر بذر و رشد هتروترفیک گیاهچه گندم. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱: ۱۹۶-۱۹۳.

شاکرمی، ب.، دیانتی‌تیلکی، ق.، طبری کوچک‌سرایی. و بهتری، ب. ۱۳۸۹. اثر تیمارهای پرایمینگ بر مقاومت به شوری بذور *Festuca arundinacea Scherab* و *Festuca ovina* L. در مرحله جوانه‌زنی و رشد اولیه. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۸(۲): ۳۲۸-۳۱۸.

شکاری، ف.، پاک‌مهر، آ.، راستگو، م.، وظایفی، م. و قریشی نسب، م. ج. ۱۳۸۹. اثر پرایمینگ بذر با اسید سالیسیلیک بر پاره‌ای صفات فیزیولوژیک لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) تحت تنش کم آبی در زمان غلاف‌بندی. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، ۱۳: ۱۳-۲۹.

عطاردی، ه.، ایران نژاد، ح.، شیرانی راد، ا. ح.، امیری، ر. و اکبری، غ. ۱۳۹۰. بررسی اثرات اعمال تنش خشکی و تاریخ کاشت روی گیاه مادری، بر بنیه و ظهور گیاهچه بذرهای تولیدی برخی ارقام کلزا. مجله علوم گیاهان زراعی ایران ، ۴۲(۱):۸۰-۷۱.

علی‌زاده، ا. ۱۳۸۳. رابطه آب، خاک و گیاه. جلد ۱، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد.

قنبری،م. و کرم نیا، س. ۱۳۹۵. ارزیابی تأثیر پیری بذر بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L) توده بومی استان گیلان تحت شرایط تنش شوری. ششمین همایش ملی حبوبات ایران، خرم آباد، ایران.

عیسوند، ح. ر. و مداح عارفی، ح. ۱۳۸۶. بررسی اثر برخی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کیفیت فیزیولوژیک بذرهای پیر شده گیاه *Bromus inermis*. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۵(۲): ۱۷۱-۱۵۹.

مجنون حسینی، ن. ۱۳۹۳. زراعت و تولید حبوبات. جلد ۱، انتشارات جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ۲۸۴ صفحه.

منصوری گندمانی.، امیدی، ح. و رضایی چرمهینی، م. ۱۳۹۵. بررسی کاربرد کیتوزان بر جوانه‌زنی سویا (*Glycine max* L.) در شرایط تنش شوری. مجله پژوهش بذر ایران، ۳: ۱۷۷-۱۷۳.

مهدوی، ب.، مدرس ثانوی، س. م.، آقا علیخانی، م. و شریفی، م. ۱۳۹۲. اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در شرایط تنش کم آبی. مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست شناسی ایران)، ۲۶: ۳۵۲-۳۶۵.

Agrawal, G. K., Rakwal, R., Tamogami, S., Yonekura, M., Kubo, A. and Saji, H. 2002. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry, 40: 1061-1069.

Ahmad, R. and Jabeen, N. 2009. Demonstration of growth improvement in sunflower (*HellanthusAnnuus*L.) by the use of organic fertilizers under saline conditions. Pakistan Journal of Botany, 41(3): 1373-1384.

Al-Ansari, F. M. 2003. Salinity tolerance during germination of two arid land varieties of wheat. Seed Science and Technology, 31: 597-603.

Al-Ashkar, A., Alderfasi, S., El-Hendawy, N., Al-Suhaibani, S. and El-Kafafi, M. F. 2019. Seleiman Detecting Salt Tolerance in Doubled Haploid Wheat Lines. Agronomy, 9(4): 211.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. 2005. pre – sowing seed treatment – Ashotgun approach to Improve germination, growth and crop yield under saline and none – saline conditions. Advances in Agronomy, 88: 223-265.

Ashraf, M., Athar, H. R., Harris, P. J. C., Kwon, T. R. 2008. Some prospective strategiesfor improving crop salt tolerance. Advances in Agronomy, 97: 45-110.

Basra, S. M. A., Zia, M. N., Mehmood, T., Afzal, I. and Khaliq, A. 2002. Comparison of different invigoration techniques in wheat (*Tiriticum aestivum* L.) seeds. Pakistan Journal of Arid Agriculture, 5: 325-329.

Bittencourt, M. L. C., Dias, D. C., Dias, L. A. and Araújo, E. F. 2005. Germination and vigour of primed Asparagus seeds. Scientia Agricola, 62(4):319-324.

Bradford, M. M. 1976. Arapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein day binding. Analitical Bioch, 72: 248-254.

Cicek, N. and Cakirlar, H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 28: 66-74.

Copeland, L. O. and McDonald, M. B. 2002. Principles of Seed Science and Technology. Annals of Botany, 89(6): 1-467.

Crini, G. 2019. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. Environmental Chemistry Letters, 17: 1623-1643.

Dzung, N. A. 2005. Application of chitin, chitosan and their derivatives for agriculture in Vietnam. Journal of Chitin and Chitosan Science, 10: 109–113.

Dzung, N. A., Thang, N. T. 2004. Effect of oligoglucosamine on the growth and development of peanut (*Arachis hypogea* L.), In: Khor, E., Hutmacher, d. and Yong, l. l. eds. Chitosan Symposium Singapore, AsiaPacific on Chitin.

El-Tantawy, E. M. 2009. Behavior of tomato plants as affected by spraying with chitosan and aminofort as natural stimulator substances under application of soil organic amendments. Pakistan Journal of Biological Science, 12: 1164-1173.

Emami Bistgani, Z., Siadat, S. A., Bakhshandeh, A., Ghasemi Pirbalouti, A. and Hashemi, M. 2017. Interactive effects of drought stress and chitosan application on physiological characteristics and essential oil yield of Thymus daenensis Celak. The Crop Journal, 5: 407-415.

Ghanbari, M., Mokhtassi-Bidgoli, A., Talebi-Siah Saran, P. and Pirani. H. 2019. Effect of deterioration on germination and enzymes activity in dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress condition. Environmental Stresses in Crop Sciences, 12: 585-594.

Isayenkov, S. 2012. Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. Cytology and Genetics, 46: 302-318.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. 2016. Seed priming with beta-amino butyric acid improves abiotic stress. Tolerance Rice Seedlings. Rice Science, 23(5): 242–254.

Jisha, K. C., Vijayakumari, K. and Puthur J. T. 2013, Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiology Plantarum, 35(5): 1381–1396.

Kaur, S., Gupta, A. K. and Kaur, N. 2005. Seed priming increase crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. Journal of Agronomy and Crop Science, 191: 81-87.

Khan, W. M., Prithiviraj, B. and Smiyh, D. L. 2002. Effect of foliar application of chitin oligosaccharides on photosynthesis of maize and soybean. Photosynthetica, 40: 621-624.

Landi, S., Capasso, G., Ben Azaiez, F. E and Jallouli S. 2019. Different roles of heat shock proteins (70kDa) during abiotic stresses in barley (*Hordeum vulgare*) genotypes. Plants, 8(8): 248-267.

Latta, M. and Eskin, M. 1980. A simple method for phytate determination. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28: 1313-1315.

Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchanwan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T .2008. Effect of chitosan on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturae (Hort Science), 116: 65–72.

Mahdavi, B. and Rahimi, A. 2013. Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan {Carum copticum) under salt stress. EurAsian Journal of BioSciences, 7: 69–76.

Manchanda, G. and Garg, N. 2008. Salinity and Its Effects on the Functional Biology of Legumes. Acta Physiologiae Plantarum, 30: 595-618.

Mazor, L., Perl, M. and Negbi, M. 1984. Changes in some ATP dependent activities in seeds during treatment with polyethylene glycol and during the redlying process. Journal of Experimental Botany, 35: 1119-1127.

Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A. and Cambraia, J. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental and Experimental Botany, 49: 69-76.

Mickelbart, M. V., Hasegawa, P. M., Bailey-Serres, J. 2015. Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. Nature Reviews Genetics, 16: 237–251.

Munns, R., James, R. A. and Läuchli, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany, 57: 1025-1043.

Murphy, D. J., Hernandez-Pinzon, I. and Patel, K. 2001. Role of lipid bodies and lipid-body proteins in seeds and other tissues. Journal of Plant Physiology, 158(4): 471-478.

Muthukumarasamy, M., Gupta, S. D. and Panneerselvam, R. 2000. Influence of Triadimefon on the metabolism of NaCl stressed radish. Biologia Plantarum, 43(1): 67-72

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

Parida, A. K. and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and environmental safety, 60(3): 324-349.

Ruixin, L., Jinxia, H., Hongguo, X., Wenxia, W., Santosh, K. B., Yeqing, S., Jianen, H. and Heng, Y. 2019. Effects of chitosan nanoparticles on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Biological Macromolecules, 1: 126:91-100.

Satvir-Kaur, A. K., Narinder-Kaur, G. and Kaur, S. 2000. Gibberline A3 reverses the effect of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by enhancing amylase activity and mobilization of starch in cotyldons. Plant Growth Regulation, 26(2):85-97.

Sedghi, M., Nemati, A., Amanpour-Balaneji, B. and Gholipouri, A. 2010. Influence of different priminig materials on germination and seedling establishment of Milk Thistle (*Silybum marianum*) under salinity stress. World Applied Sciences Journal, 11(5): 604-609.

Soltani, A., Gholipoor, M., and Zeinali, E. 2006. . Seed reserve utilization and seedling growth of wheat as affected by drought and salinity. Environmental and Experimental Botany. 55: 195- 200.

Sharif, R., Mujtaba, M., Ur Rahman, M., Shalmani, A., Ahmad, H., Anwar, T., Tianchan, D. and Wang, X. 2018. The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; A review. Molecules, 23: 872.

Shukla, N., Kuntal, H., Shanker, A. and Sharma, S. 2018. Hydro-priming methods for initiation of metabolic process and synchronization of germination in mung bean (*Vigna radiata* L.) seeds. Journal of Crop Science and Biotechnology, 21(2): 137–146.

Srinivasan, K., Saxena, S. and Singh, B. B. 1999. Osmo- and hydropriming of mustard seeds to improve vigour and some biochemical activities. Seed Science and Technology, 27(2): 785-789.

Timothy, P. 2001. Glutathion-related enzymes and selenium status: implications for oxidative stress. Biochemical Pharmacology, 62: 237-281.

Tsonev, T. D., Lazova, G. N., Stoinova, Z. G. and Popova, L. P. 1998. A possible rolefor jasmonic acid in adaptation of barley seedling to salinity stress. Journal of Plant Growth Regulation, 17(3):153-159.

Wang, Y.J., Wang, M.Y. and Huang, R. R. 2012. Effect of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of *Brassica napus* L. Bulletin of Botanical Research, 32(6): 689-694.

Yazdanpanah, S., Baghizadeh, A. and Abbassi, F. 2011. The interaction between drought stress and salicylic and ascorbic acids on some biochemical characteristics of *Satureja hortensis*. African Journal of Agricultural Research, 6: 798-807.

Zhang, M., Wang, Z., Yuan, L., Yin, C., Cheng, J., Wang, L., Huang, J. and Zhang, H. 2012. Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. African Journal of Biotechnology, 11: 6305–6311.

Zhao, L., Shi, L., Zhang, Zh., Chen, J., Yang, J. and Tang. Z. H. 2011. Preparation and application of chitosan nanoparticles and nanofibers, Brazilian Journal of Chemical Engineering pp. 353-362.

The Effect of Priming with Different Levels of Chitosan on Physiological and Biochemical Traits in French Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Under Salinity Stress

Saadat[1], H. Sedghi[2*], M., Seyed Sharifi[3], R. and Farzaneh[4], S.

Abstract

Priming prepares the seeds physiologically and biochemically for germination before being placed in their bed and exposed to the salinity stress. In order to investigate the effect of different levels of chitosan on physiological and biochemical traits in French bean (*Phaseolus vulgaris* L. CV. Sadri) under salinity stress, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with four replications at the University of Mohaghegh Ardabili in 2021. Factors included four salinity levels (0, 50, 100 and 150 mM) and four chitosan levels (0, 0.25, 0.50 and 0.75% by weight-volume). The results showed that salinity stress decreased germination percentage (GP) and increased mean germination time (MGT) and residual dry weight (RDW). Chitosan reduced the effect of salinity and improved GP and Seedling Moisture Percentage (SMP). With increasing salinity, seed reserves utilization rate (SRUR), seed reserve utilization efficiency (SRUE) and deduction of used seed reserves (DUSR) decreased. The highest and the lowest of SRUR, DUSR and SR were obtained from the application of salinity levels of 50 and 150 Mm, respectively. The amount of SRUR, SRUE and DUSR in 0.75 chitosan priming was higher about 10.4, 9.6 and 7.2%, respectively, compared to the control treatment (priming with distilled water). SRUE and SR reduction was about 13.4 and 8.3%, respectively compared to the control without salinity. Also, the amount of Protein and Phytin in pretreatment with 0.75% chitosan and 0 mM salinity showed an increase about 30% and 47% compared to the control, respectively. In general, seed pretreatment with appropriate concentrations of chitosan especially 0.75% chitosan improves growth and reduces the adverse effects of salinity on the bean plant.

.

Keywords: Protein, Seed reserves remobilization, Seedling Tissue Water Percentage, Phytin, Sodium Chloride

1, 2, 3 and 4. PhD Student, Professors and Associate Professor, Respectively, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabil, Ardabil, Iran

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

This paper has been extracted from the first author's PhD thesis under the supervision of Mohammad Sedghi.