پژوهش‌های بذر ایران/ سال نهم/ شماره اول/ ۱۴۰۱/ صفحات: ۱۲۶-۱۱۱

مقاله پژوهشی

تأثیر انواع پرایمینگ بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris*) تحت تنش کلریدکبالت

خدیجه صورآذر[۱،*]، محمد صدقی[۲]، رئوف سیدشریفی[۲]

چکیده مبسوط

مقدمه: مرحله جوانه‌زنی تضمین‌کننده دوام، استقرار و عملکرد نهایی گیاهان می‌باشد. تراکم نهایی بوته در واحد سطح، زمانی به‌دست می‌آید که بذرهای کشت شده به‌طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند. گیاهان اغلب تحت تنش‌های غیرزنده قرار می‌گیرند که محدودیت عمده‌ای برای تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است. پرایمینگ بذر از جمله روش‌های بسیار ساده و ارزان جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، تسریع رشد و استقرار گیاهچه، یکنواختی، کاهش زمان گلدهی، تولید گیاهچه قوی و غیره است که موجب بهبود کیفیت و عملکرد محصول در شرایط تنش‌زا و بدون تنش در گیاهان می‌گردد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر انواع پرایمینگ بر تغییرات آنزیمی و فیزیولوژیکی بذر لوبیا قرمز در شرایط بروز تنش کلریدکبالت بود.

مواد و روش‌ها: جهت بررسی اثر انواع پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی، تغییرات آنزیمی و پروتئینی بذر لوبیا قرمز تحت تنش کلریدکبالت، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. این فاکتورها شامل چهار سطح، پرایمینگ بذر با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدسالیسیلیک و مانیتول، آب مقطر و شاهد (عدم پرایمینگ) و همچنین سه سطح غلظت کلریدکبالت (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلریدکبالت شاخص‌های جوانه‌زنی (سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه) کاهش یافت، با این‌حال، آب مقطر، اسیدسالیسیلیک و مانیتول افزایش معنی‌داری در شاخص‌های جوانه‌زنی (متوسط زمان جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و وزن تر ساقه‌چه) مشاهده شد. برهم‌کنش پرایمینگ و کلریدکبالت موجب افزایش وزن خشک ریشه‌چه در مقایسه با تیمار شاهد × تنش شد. بالاترین مقدار وزن تر ریشه‌چه (۱۴/۴ گرم)، وزن خشک ساقه‌چه (۰/۲۷ گرم) و طول ساقه‌چه (۰/۱۷ سانتی‌متر) در پیش‌تیمار هیدروپرایمینگ به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که هورمون‌پرایمینگ در شرایط تنش ناشی از ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکبالت به‌ترتیب موجب افزایش محتوای پروتئین و میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در مقایسه با تیمار شاهد شد. اسموپرایمینگ موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در شرایط عدم تنش و تنش ناشی از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکبالت شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با وجود اینکه کلریدکبالت برخی از صفات فیزیوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا قرمز را کاهش داد. با این‌حال، لوبیا قرمز از توانایی تحمل کلریدکبالت نسبتاً بالایی برخوردار است، به‌طوری‌که تا ۹ روز نسبت به غلظت‌های مختلف کلریدکبالت تحمل مناسبی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، جوانه‌زنی، کلریدکبالت، لوبیا قرمز، مانیتول

جنبه‌های نوآوری:

۱-تأثیر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و انواع پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذر لوبیا قرمز بررسی شد.

۲- محتوای پروتئین گیاهچه لوبیا قرمز تحت تأثیر هورمون‌پرایمینگ افزایش یافت.

[۱] دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

[۲] استاد، گروه علوم و مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

[*] رایانامه نویسنده مسئول: k_sourazar@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.1.6.7

DOI: 10.52547/yujs.9.1.111

مقدمه

لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris*) یکی از گیاهان مهم تیره بقولات است که به‌دلیل دارا بودن پروتئین بالا و ارزش غذایی زیاد می‌تواند جایگزین مناسبی برای پروتئین حیوانی باشد و در مقایسه با غلات دو تا سه برابر و نسبت به گیاهان نشاسته‌ای، ۲۰-۱۰ برابر پروتئین بیشتری دارد (قاسمی پیربلوطی و گلپرور[۱]، ۲۰۰۵). مرحله جوانه‌زنی تضمین‌کننده دوام، استقرار و عملکرد نهایی گیاهان می‌باشد. تراکم نهایی بوته در واحد سطح، زمانی به‌دست می‌آید که بذرهای کشت شده به‌طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند. جوانه‌زنی مطلوب بذر و استقرار گیاهچه‌ها اهمیت ویژه‌ای در دستیابی به رشد و به تبع آن عملکرد مطلوب دارد (اسکندری[۲]، ۲۰۱۲). با این‌حال، گیاهان اغلب در معرض تنش‌های غیرزنده قرار می‌گیرند که محدودیت عمده‌ای برای تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است. شرایط نامطلوب محیطی که گیاهان در چرخه رویشی با آن‌ها روبرو می‌شوند، واکنش‌های متابولیکی آن‌ها را مختل کرده و بر عملکرد سلول‌های گیاهی از قبیل فعالیت‌های بیوشیمیایی تأثیر منفی می‌گذارند (آیمن[۳]، ۲۰۱۸).

کبالت که به‌عنوان عنصر ضروری برای گیاهان شناخته نشده است، با این‌حال ممکن است که در غلظت‌های پایین بر عملکرد زیستی و فیزیولوژیکی حبوبات تأثیر مثبت داشته باشد. گزارش‌های متعددی نشان داده‌اند که غلظت‌های بالای کبالت در خاک برای رشد و نمو گیاهان تهدیدی جدی را ایجاد می‌کند (کاروپاناپاندیان و کیم[۴]، ۲۰۱۳؛ لوالابا[۵] و همکاران، ۲۰۱۷ a, b) که ممکن است موجب متوقف کردن فرآیندهای رشد و بروز علایم بیماری مانند کلروز، نکروز، مرگ بافت و افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌ها، مانند پراکسیداز یا اسیدفسفاتاز گردد (ویسکوفسکی[۶] و همکاران، ۲۰۰۹؛ چترجی[۷] و همکاران، ۲۰۰۶). از دیگر اثرات منفی وجود غلظت بالای کبالت در خاک بر رشد و عملکرد گیاهان می‌توان به اختلال در فتوسنتز، کوچک‌تر شدن فضاهای بین سلولی و متلاشی شدن ساختار کلروپلاست (چوداری[۸] و همکاران، ۲۰۱۷) و در نهایت تأخیر بلوغ گل‌ها، تولید بذرهای بی‌کیفیت و غیره اشاره کرد (جادون و مالیک[۹]، ۲۰۱۸؛ موتوریا[۱۰] و همکاران، ۲۰۱۷).

پرایمینگ بذر از جمله روش‌های بسیار ساده و ارزان جهت بهبود جوانه‌زنی بذر، تسریع رشد و استقرار گیاهچه، یکنواختی، کاهش زمان گلدهی و تولید گیاهچه قوی است که موجب بهبود کیفیت و عملکرد محصول در شرایط تنش‌زا و بدون تنش در گیاهان می‌گردد (بوز[۱۱] و همکاران، ۲۰۱۸). از انواع روش‌های پرایمینگ بذر می‌توان به مواردی از قبیل هیدروپرایمینگ[۱۲]، اسموپرایمینگ[۱۳]، هورمون‌پرایمینگ[۱۴] و غیره اشاره کرد. هیدروپرایمینگ یک روش ارزان و ساده برای بهبود تحمل تنش برای گیاهان است که در این روش بذرها در آب مقطر به همراه هوادهی تا مدت زمان معینی جهت القای فعالیت‌های متابولیکی قبل از جوانه‌زنی و بدون اینکه جوانه‌زنی واقعی آغاز شود، خیسانده می‌شوند و در ادامه بذرها از طریق خشک کردن مناسب در زیر سایه به وزن اصلی خود برگردانیده می‌شوند (جیشا[۱۵] و همکاران، ۲۰۱۳؛ سینگ[۱۶] و همکاران، ۲۰۱۵). اسموپرایمینگ، نوع خاصی از آماده‌سازی پیش از کاشت بذرها می‌باشد که از طریق خیساندن بذرها در محلول‌هایی با پتانسیل اسمزی پایین حاوی مواد شیمیایی مختلفی نظیر پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، پلی اتیلن گلایکول، مانیتول و دیگر ترکیبات شیمیایی با وزن مولکولی بالا صورت می‌گیرد (جیشا و همکاران، ۲۰۱۳). هورمون‌پرایمینگ، پیش‌تیمار بذر با هورمون‌های مختلف از

[1] Ghasemi pirbaluti and Golparvar
[2] Eskandari
[3] Aymen
[4] Karuppanapandian and Kim
[5] Lwalaba
[6] Wyszkowski
[7] Chatterjee
[8] Chaudhari
[9] Jadoon and Malik
[10] Muthaura
[11] Bose
[12] Hydropriming
[13] Osmopriming
[14] Hormone priming
[15] Jisha
[16] Singh

جمله اسید سالیسیلیک[1] (SA)، اسید آبسیزیک (ABA)، اسید جیبرلیک (GA_3)، کینتین و غیره می‌باشد (سینگ و همکاران، ۲۰۱۵). محققان گزارش داده‌اند که استفاده از اسید سالیسیلیک جوانه‌زنی در لوبیا را در شرایط تنش فلزات سنگین افزایش داده است، همچنین رشد ریشه گیاهچه، وزن خشک گیاهچه لوبیا نسبت به شاهد (بدون اسید سالیسیلیک) افزایش یافت (نوآیری[2] و همکاران، ۲۰۱۹؛ گل[3] و همکاران، ۲۰۲۰؛ وائل[4] و همکاران، ۲۰۱۵). همچنین نتایج تحقیقات گذشته نشان داده است که استفاده از هورمون SA در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نتایج بهتری نسبت به سایر غلظت‌های اسید سالیسیلیک داشت که در این پژوهش نیز غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مدنظر قرار گرفت (افتخار[5] و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین پیش‌تیمار تیمار بذرها با مانیتول پنج درصد موجب افزایش طول هیپوکوتیل، کلئوپتیل، طول ریشه و احیای گیاه گندم (*Triticum aestivum*) در شرایط تنش‌زا شد (آموژین[6] (آموژین[6] و همکاران، ۲۰۱۳). هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر انواع پرایمینگ بر تغییرات آنزیمی و فیزیولوژیکی بذر لوبیا قرمز در شرایط بروز تنش کلریدکبالت بود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر انواع پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و تغییرات آنزیمی و پروتئینی بذر لوبیا قرمز تحت تنش کلریدکبالت آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل غلظت‌های مختلف کلریدکبالت (صفر (عدم کاربرد کلریدکبالت)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و انواع پرایمینگ بذر (عدم پرایمینگ بذر (شاهد)، پرایمینگ با آب مقطر، مانیتول و اسیدسالیسیلیک) بود. جهت اعمال پرایمینگ، بذرها به مدت ۱۲ ساعت با محلول‌های آب مقطر، اسید سالیسیلیک و مانیتول با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار شدند و سپس بذرها از محلول خارج گردید و دو بار با آب مقطر شستشو و آبکشی شدند و پس از آن بذرها از طریق خشک کردن در محیط آزمایشگاه به وزن اصلی خود برگردانیده شدند و سپس در هر ظرف پلاستیکی مخصوص کشت به تعداد ۲۵ عدد بذر سالم بین کاغذ صافی کشت شدند. مقدار پنج میلی‌لیتر از محلول‌های کلریدکبالت با غلظت‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به محیط کشت اضافه شد (جهت تیمار شاهد (عدم استفاده از تنش کلریدکبالت) از آب مقطر استفاد گردید). سپس ظروف کشت در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت نه روز نگهداری شدند (ایستا[7]، ۲۰۰۹). شمارش شمارش بذرهای جوانه‌زده (خروج ریشه‌چه به اندازه دو میلی‌متر) به صورت روزانه در یک زمان معین انجام گردید و در صورت نیاز به محیط آب مقطر اضافه گردید (سلطانی[8] و همکاران، ۲۰۰۱). زمانی که تعداد بذرهای جوانه‌زده در بستر کشت در طول سه روز متوالی هیچ تغییری نکرد و ثابت ماند، شمارش متوقف شد (ایستا، ۲۰۰۹). به‌منظور محاسبه صفات جوانه‌زنی (درصد، سرعت، یکنواختی و متوسط زمان جوانه‌زنی) از برنامه Germin نسخه دو استفاده شد (سلطانی و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین وزن خشک و تر گیاهچه با استفاده از ترازو با دقت یک هزارم و همچنین طول گیاهچه نیز با خط‌کش اندازه‌گیری شد. شاخص‌های قدرت بذر با استفاده از حاصلضرب درصد جوانه‌زنی نهایی (درصد جوانه‌زنی در روز آخر) در طول (میلی‌متر) و وزن خشک گیاهچه (گرم) محاسبه گردید (آگراوال[9]، ۲۰۰۳؛ عبدالباکی و اندرسون[10]، ۱۹۷۳).

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز، عصاره آنزیمی با استفاده از روش سودهاکار[11] و همکاران (۲۰۰۱) استفاده گردید. به همین منظور ابتدا ۰/۲ گرم

[1] Salicylic acid
[2] Nouairi
[3] Gul
[4] Wael
[5] Eftekhar
[6] Amoghein
[7] ISTA
[8] Soltani
[9] Agrawal
[10] Abdul-Baki and Anderson
[11] Sudhakar

نمونه تر در حمام یخ در داخل هاون چینی له شد و با ۱ میلی‌لیتر بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار با (pH=۷/۵) هموژن شد. همگنای حاصل به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ نموده و محلول شناور رویی برای اندازه‌گیری میزان آنزیم‌های مذکور مورد استفاده قرار گرفت.

پروتئین کل از ساقه‌چه لوبیا قرمز با استفاده از روش برادفورد[1] (۱۹۷۶) استخراج و اندازه‌گیری شد. برای تهیه تهیه معرف پروتئین برادفورد ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو جی در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ به مدت حداقل یک ساعت حل و سپس، ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۸۵٪ قطره قطره به آن افزوده شد و حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سرانجام ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی مخلوط و ورتکس شد. جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. غلظت براساس میلی-گرم پروتئین در گرم وزن تر بافت گیاهی گزارش گردید.

تجزیه آماری داده‌های حاصل از شاخص‌های جوانه-زنی (درصد (بر حسب درصد)، سرعت (بذر در روز)، یکنواختی و متوسط زمان جوانه‌زنی (روز))، شاخص‌های قدرت بذر (قدرت وزنی و طولی بذر)، شاخص‌های رشد گیاهچه (طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بر حسب سانتی‌متر، وزن تر ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بر حسب گرم)، میزان محتوی پروتئین (درصد) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان لوبیا قرمز (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز برحسب میکروگرم پروتئین بر دقیقه) با استفاده از نرم افزارهای SAS9.4 و SPSS18 انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد اجرا گردید. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel 2018 استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی صفات فیزیولوژی لوبیا قرمز

شاخص‌های جوانه‌زنی

به‌طور کلی نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت، انواع پرایمینگ و برهم‌کنش آن‌ها بر یکنواختی و درصد جوانه‌زنی معنی-دار نبود. با این‌حال، تأثیر تیمارهای انواع پرایمینگ و غلظت‌های مختلف کلریدکبالت بر سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی بذر لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر اصلی انواع پرایمینگ بر متوسط زمان و سرعت جوانه‌زنی نشان داد که بیش‌ترین سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد (۰/۴۱۹ بذر در روز) و اسموپرایمینگ (۲/۷۰۲ روز) بود. این در حالی بود که کم‌ترین میزان سرعت و متوسط زمان جوانه‌زنی نیز به‌ترتیب در تیمارهای اسموپرایمینگ (۰/۳۷۱ بذر در روز) و شاهد (۲/۳۸۴ روز) به‌دست آمد (جدول ۲). علاوه بر این، نتایج مقایسه میانگین حاصل از بررسی اثر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت بر سرعت جوانه‌زنی نشان داد که با افزایش غلظت کلریدکبالت سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌دار کاهش یافت، اما بین سطوح تنش تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد، تیمار شاهد بیش‌ترین (۰/۴۰۷ بذر در روز) میزان سرعت جوانه‌زنی را نشان داد. همچنین این نتایج نشان داد که افزایش غلظت تنش از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب کاهش سرعت جوانه‌زنی به میزان ۲/۰۹۹ درصد شد (جدول ۳). با استناد به جدول ۳ می‌توان چنین استنباط نمود که تنش موجب طولانی‌شدن زمان جوانه-زنی بذر شده به‌طوری‌که متوسط زمان جوانه‌زنی با افزایش غلظت کلریدکبالت نزدیک به ۱۰٪ نسبت به شاهد افزایش یافت. کم‌ترین و بیش‌ترین زمان برای جوانه‌زنی لوبیا قرمز به‌ترتیب در تیمار شاهد (۲/۴۶۶ روز) و کلریدکبالت در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۲/۷۰۴ روز) مشاهده شد، با این‌حال بین سطوح تنش اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. براساس نتایج تحقیقات گذشته به‌نظر می‌رسد که کاهش آب سلول، سخت‌شدن دیواره سلول، کاهش جذب عناصر غذایی ضروری و کاهش وزن زنده گیاه (به‌دلیل اختلال در فرآیندهای فتوسنتز)، تنفس و متابولیسم نیتروژن از جمله دلایل اختلال در سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهان تیمار شده با

[1] Bradford

فلزات سنگین باشد (بلستراسه[1] و همکاران، ۲۰۰۱). به‌طور مثال در تحقیقی مشابه، شارما[2] و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که کلریدکبالت سبب کاهش رشد و جوانه‌زنی دو گونه گیاه ابریشم (*Albizia lebbeck* و *Albizia procera*) شدند. نتایج مطالعات دیگر نیز افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی بذر کلزا (*Brassica napus*) را در شرایط بروز تنش تأیید نموده است (موسوی[3] و همکاران، ۲۰۱۹).

قدرت وزنی و طولی بذر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف کلریدکبالت، انواع پرایمینگ و اثر متقابل آن‌ها بر قدرت وزنی گیاهچه لوبیا قرمز معنی‌دار نبود. در حالی‌که، تنها کلریدکبالت بر قدرت طولی گیاهچه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال آماری یک درصد داشت (جدول ۱). همان‌طور که در جدول ۳ قابل مشاهده است با افزایش غلظت کلریدکبالت قدرت طولی گیاهچه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. با این‌حال، تفاوت معنی‌داری بین دو سطح تنش به‌دست نیامد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان قدرت طولی گیاهچه لوبیا قرمز به‌ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد (۱۸۱۵۲/۵) و تنش کلریدکبالت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۴۷۶۰/۱) بود. به‌طوری‌که کلریدکبالت به میزان ۳/۸ برابر قدرت طولی گیاهچه لوبیا قرمز را در مقایسه با شاهد کاهش داد. نتایج تحقیقات امینی[4] و همکاران (۲۰۱۵) بر شاخص بنیه بذر لوبیا با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که کادمیوم در غلظت بالا سبب اختلال در نمو گیاهچه، توقف رشد و شاخص بنیه بذر لوبیا می‌گردد، دلیل اختلال در رشد گیاهچه را نفوذ سریع فلزات سنگین به داخل بذر همراه با آب از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم از جمله تنفس و ممانعت از تقسیم سلول‌ها عنوان کردند (مارکز گارسیا[5] و همکاران، ۲۰۱۳؛ کرنر و کولویله[6]، ۲۰۱۱).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

اثر انواع پرایمینگ، غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و برهم‌کنش آن‌ها بر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همان‌طور که در شکل ۱a قابل مشاهده است، بیش‌ترین و کم‌ترین طول ریشه‌چه لوبیا قرمز به‌ترتیب در تیمار هیدروپرایمینگ در شرایط عدم تنش (۱۴/۴۹۷سانتی‌متر) و تیمار اسموپرایمینگ در تنش ناشی از ۲۰۰ میلی‌لیتر کلریدکبالت (۰/۶۵۸ سانتی‌متر) مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد اسموپرایمینگ، قابلیت ارتجاع دیواره سلولی ریشه‌چه را افزایش داده و موجب تسهیل رشد طولی ریشه‌چه لوبیا قرمز می‌گردد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و کلریدکبالت نشان داد که طول ساقه‌چه پس از تیمار با هورمون‌پرایمینگ در شرایط مساعد در مقایسه با سایر تیمارها بیش‌ترین طول ساقه‌چه را داشت (۱۳/۷ سانتی‌متر). این در حالی بود که کم‌ترین طول ساقه‌چه در تیمار هورمون‌پرایمینگ در ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت (۲/۹۸ سانتی‌متر) مشاهده شد (شکل 1b). مطالعات نشان داده‌اند که کبالت توسط ریشه‌های گیاه به‌صورت کاتیون در حالت اکسیداسیون ۲+ و ترکیبات کلات جذب می‌شود (کاروپاناپاندیان و کیم، ۲۰۱۳). با توجه به ترشح فلاونوئید توسط ریشه‌های گیاه، بیان ژن توسط ریزجانداران ریزوبیوم ایجاد می‌شود و ژن‌های رمزگذارنده آن در گره‌ها باعث آلودگی ریشه موئین و سپس گره‌های تشکیل نیتروژن می‌شوند (عبدالله[7] و همکاران، ۲۰۱۴). علاوه بر آن، کبالت در غلظت‌های بالا مانع ساخت RNAهای ریبوزومی در سلول‌های مریستمی شده است (سریدا[8] و همکاران، ۲۰۰۸). با مهار تقسیم میتوزی و جلوگیری از طویل شدن سلول‌ها موجب کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (شولان[9] و همکاران، ۲۰۱۰).

[1] Balestrasse
[2] Sharma
[3] Mousavi
[4] Amini
[5] Marquez Garsia
[6] Kranner and Colville
[7] Abd-Alla
[8] Serida
[9] Shulan

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پرایمینگ و کلریدکبالت بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژی بذر لوبیا قرمز

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for priming and cobalt chloride effect on physiology and germination indices and of French bean seed

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	یکنواختی جوانه‌زنی Germination uniformity	متوسط زمان جوانه‌زنی Average germination time	قدرت طولی بذر Seed weight vigor	قدرت وزنی بذر Longitudinal vigor of the seed
پرایمینگ Priming (P)	3	2.815 ^{ns}	0.004 **	0.081 ^{ns}	0.203 **	2.448E7 **	17.778 ^{ns}
تنش کلریدکبالت Cobalt chloride (C)	2	5.778 ^{ns}	0.004 **	0.043 ^{ns}	0.179 **	6.733E8 **	11.313 ^{ns}
پرایمینگ × تنش P×C	6	4.593 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.132 ^{ns}	0.044 ^{ns}	1.018E7 ^{ns}	8.737 ^{ns}
خطای آزمایش Error	24	4.889	0.0000001	0.076	0.022	1.055E7	8.390
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)	-	2.223	5.313	18.256	5.762	8.262	4.093

ns ، ** به‌ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

ns, ** indicates non-significance and significance at 1% probability level, respectively

جدول ۱. ادامه

Table 1. Continued

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	وزن تر ریشه‌چه Radicle wet weight	وزن تر ساقه‌چه Plumule wet weigh	وزن خشک ریشه‌چه Radicle dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule dry weight	طول ریشه‌چه Radicle length	طول ساقه‌چه Plumule length
پرایمینگ Priming (P)	3	0.0051**	0.0528**	0.0098**	0.0033**	15.830**	10.420**
تنش کلریدکبالت Cobalt chloride (C)	2	0.0108**	0.037**	0.0123**	0.0017**	504.185**	139.515**
پرایمینگ × تنش P×C	6	0.0037**	0.0096**	0.0094**	0.00206**	9.674**	11.804**
خطای آزمایش Error	24	0.000070	0.000414	0.00000163	0.000061	0.098	0.222
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)	-	16.886	2.665	5.130	3.376	6.364	8.641

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** Indicates significance at the 1% probability level

وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر انواع پرایمینگ، غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و اثر متقابل آن‌ها بر وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در بررسی اثرات متقابل غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و انوع پرایمینگ مشخص گردید که بیش‌ترین وزن تر ریشه‌چه (۰/۱۷ گرم) و ساقه‌چه (۰/۹۱ گرم) به‌ترتیب مربوط به تیمارهای هیدروپرایمینگ و اسموپرایمینگ در شرایط کنترل شده بود. با این‌حال، کم‌ترین میزان وزن تر ریشه‌چه (۰/۰۱۷ گرم) و ساقه‌چه (۰/۵۹ گرم) نیز در تیمار شاهد (عدم پرایمینگ) در شرایط تنش ناشی از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت مشاهده گردید (شکل 1c و 1d). نتایج تحقیقات گذشته نشان داد که افزایش میزان کبالت موجب اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی در گیاهان می‌گردد (وندلینگ[1] و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به اینکه ریشه‌های گیاه ارگان اصلی جذب یون‌های فلزی از محیط هستند، لذا علایم سمیت فلزات سنگین ابتدا در این اندام‌ها مشاهده می‌گردد (بزروکووا[2] و همکاران، ۲۰۱۶).

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه

اثر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت، انواع پرایمینگ و اثر ترکیبی این دو عامل بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد در شرایط کنترل‌شده (۰/۲۰۸ گرم) و تیمار هیدروپرایمینگ تحت تنش کلریدکبالت در غلظت ۱۰۰ میلی‌لیتر (۰/۲۷ گرم) بود. با این‌حال، کم‌ترین میزان وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه لوبیا قرمز به‌ترتیب در تیمار هورمون‌پرایمینگ در ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت (۰/۰۰۳۵ گرم) و تیمار شاهد در ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت (۰/۱۹۴ گرم) به‌دست آمد (شکل 1e و 1f). در واقع بررسی‌ها نشان داد که اسموپرایمینگ و هیدروپرایمینگ در شرایط تنش ناشی از ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند و میانگین وزن خشک ساقه‌چه‌ها با افزایش غلظت کبالت افزایش یافته است و در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند.

به‌نظر می‌رسد که تنش‌های محیطی علاوه بر این‌که موجب کاهش در شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شوند، در روند مصرف مواد ذخیره‌ای و کاهش در وزن خشک ریشه‌چه، ساقه‌چه و در نهایت گیاهچه نیز اثرگذارند. با توجه به اینکه پرایمینگ در فعال شدن برخی صفات بیوشیمیایی بذر مؤثر است، لذا ممکن است منجر به تغییر در روند رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در بذر گردد. میزان این تغییرات بسته به گونه‌های مختلف و شرایط پرایمینگ (نور، غلظت محلول، دما، نحوه خشک‌کردن بذر و غیره) می‌تواند، متفاوت باشد. براساس نتایج تحقیق خزاعی[3] و همکاران (۲۰۱۶) هیدروپرایمینگ بذر بذر جو (*Hordeum vulgare*) اثرات قابل ملاحظه‌ای روی طول ساقه‌چه، وزن تَر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه، طول و حجم ریشه‌چه به همراه قدرت گیاهچه ایجاد نمود. آن‌ها دلیل جوانه‌زنی سریع‌تر بذر پرایم شده را به استفاده بیشتر از منابع موجود در بازه آزمایش ربط دادند و اظهار داشتند که وابستگی اندام هوایی به بخش زیرزمینی، افزایش صفات مرتبط با ریشه در بذرهای پرایم شده احتمالاً دلیل موجهی برای بهبود صفات طول، سطح سبز، وزن تر و خشک دو رقم جو باشد (خزاعی و همکاران، ۲۰۱۶).

[1] Wendling
[2] Bezrukova
[3] Khazaei

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر انواع پرایمینگ بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژی بذر لوبیا قرمز

Table 2. The mean comparison for the effect of priming types on physiology and germination indices of French bean seed

تیمار Treatment	قدرت طولی بذر Seed weight vigor	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (Seeds per day)	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) Average germination time (day)
بدون پرایمینگ No priming	11137 [a]	0.419 [a]	2.384 [a]
هیدروپرایمینگ Hydro priming	8681 [ab]	0.383 [b]	2.621 [b]
اسموپرایمینگ Osmo priming	7621 [b]	0.371 [b]	2.702 [b]
هورمون‌پرایمینگ Hormone priming	10623 [ab]	0.373 [b]	2.701 [b]

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means with non-common letters in each column indicate significance based on Duncan's test at the 5% probability level.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کلریدکبالت بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فیزیولوژی بذر لوبیا قرمز

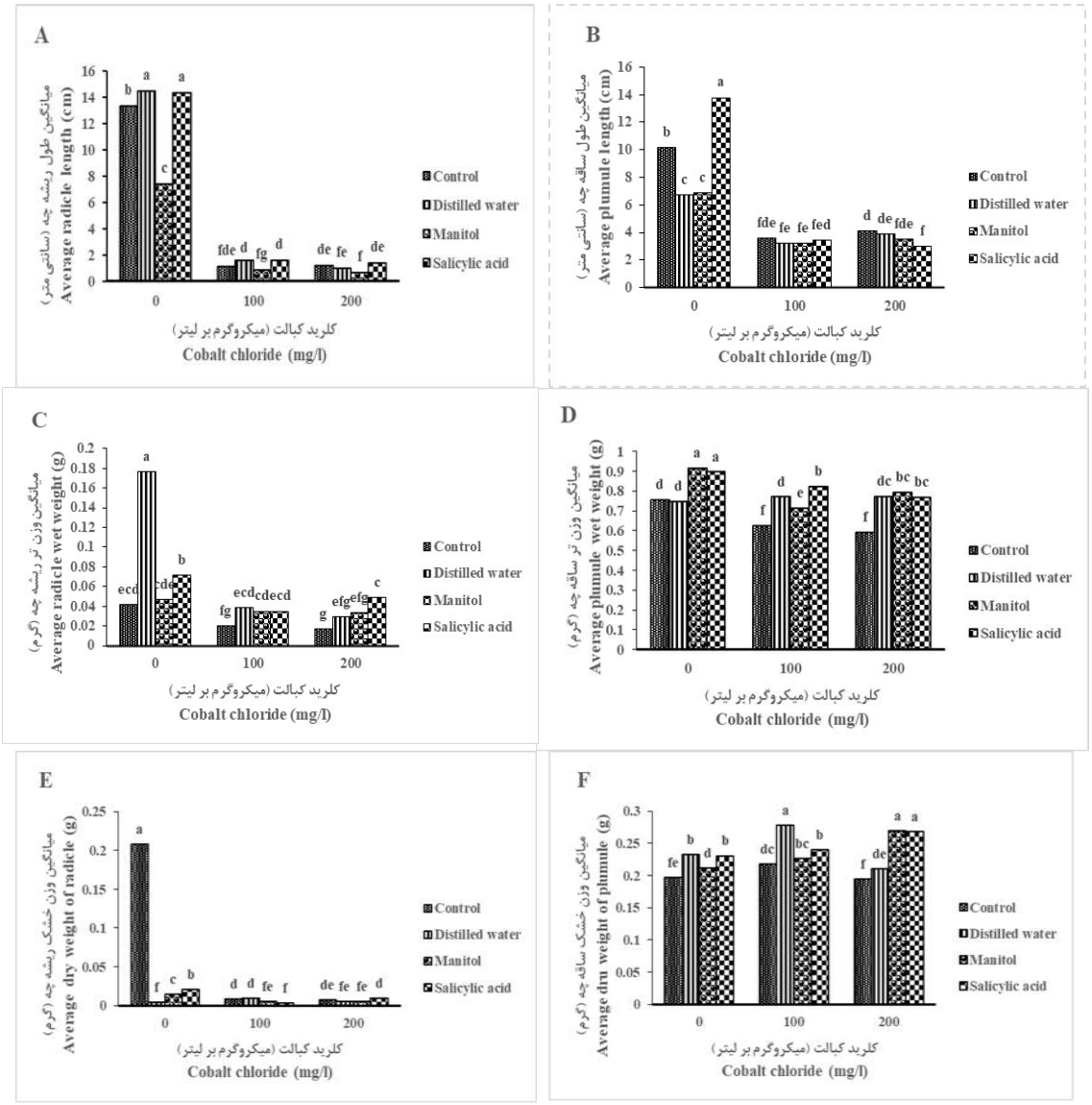
Table 3. The mean comparison for the effect of different levels of cobalt chloride on physiology and germination indices and of French bean seed

تیمار Treatment	قدرت طولی بذر Seed weight vigor	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (Seeds per day)	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز) Average germination time (day)
شاهد Control	18152.50 [a]	0.407 [a]	2.466 [a]
کلریدکبالت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر Cobalt chloride 100 mg/L	5640.86 [b]	0.381 [b]	2.635 [b]
کلریدکبالت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر Cobalt chloride 200 mg/L	4760.11 [b]	0.373 [b]	2.704 [b]

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.

Means with non-common letters in each column indicate significance based on Duncan's test at the 5% probability level

.



شکل ۱. اثر انواع پرایمینگ بر میزان طول ریشه‌چه (A)، طول ساقه‌چه (B)، وزن تر ریشه‌چه (C)، وزن تر ساقه‌چه (D)، وزن خشک ریشه‌چه (E) و وزن خشک ساقه‌چه (F) گیاهچه‌های لوبیا قرمز تحت تنش کلریدکبالت . (میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر نمودار نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد).

Fig. 1. Effect of different types of priming on radicle length (A), plumule length (B), radicle wet weight (C), plumule wet weight (D), radicle dry weight (E) and plumule dry weight (F) of French bean seedlings under cobalt chloride stress. (Means with non-common letters in each figure indicate significance based on Duncan's test at the 5% probability level).

بررسی صفات بیوشیمیایی لوبیا قرمز

میزان پروتئین گیاهچه

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر انواع پرایمینگ، غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و اثر متقابل آن‌ها بر میزان درصد پروتئین گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). تیمار هیدروپرایمینگ و تیمار هورمون‌پرایمینگ موجب افزایش محتوای پروتئین لوبیا قرمز در مقایسه با تیمار شاهد شدند، به‌طوری‌که استفاده از اسید سالیسیلیک به‌عنوان پیش‌تیمار توانست به میزان چهار برابر محتوای پروتئین لوبیا قرمز را نسبت به تیمار شاهد (عدم پرایمینگ بذور) افزایش دهد. به‌طور کلی بیش‌ترین

(۵۹/۴۸ درصد) و کم‌ترین (۱۲/۰۹ درصد) درصد پروتئین به‌ترتیب در تیمار هورمون‌پرایمینگ و اسموپرایمینگ در شرایط عدم تنش مشاهده شد. همچنین، تیمار هیدروپرایمینگ و هورمون‌پرایمینگ در شرایط تنش ناشی از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکبالت محتوای پروتئین گیاهچه لوبیا قرمز را در مقایسه با تیمار شاهد و اسموپرایمینگ افزایش دادند (شکل 2a). سمیت عناصر سنگین با برهم‌زدن تعادل بین تولید و تخریب، موجب انباشتگی رادیکال‌های آزاد (ROS[1]) و ایجاد خسارت اکسیداتیو، تخریب پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در ساختار گیاه می‌گردد (زنگ[2] و همکاران، ۲۰۱۴). هورمون‌های گیاهی مولکول‌های اصلی سیگنالینگ هستند که از طریق فعال‌سازی چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان، انتقال زنجیره سیگنال و تحریک چندین عامل رونویسی در سلول‌های گیاهی نقش مهمی را در کاهش اثرات مضر فلزات سنگین ایفا می‌کنند (سریواستاوا[3] و همکاران، ۲۰۱۳a، b؛ ویلکینسون[4] و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین به‌نظر می‌رسد که اسیدسالیسیلیک پاسخ تنش کلریدکبالت را در گیاهچه لوبیا قرمز تعدیل می‌کند و منجر به تضعیف سمیت این عنصر شده و در نهایت موجب القای بیان پروتئین شده است.

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر انواع پرایمینگ، غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و اثر متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). اسموپرایمینگ بیش از ۱۹٪ فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد افزایش داد. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۹/۹۰۸ میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در تیمار اسموپرایمینگ در شرایط کنترل‌شده مشاهد گردید (شکل 2b). این احتمال وجود دارد که در برخی موارد، پاسخ‌های تنش با واسطه SA به افزایش تولید پراکسید هیدروژن[5] با مهار فعالیت کاتالاز گردد که ممکن است دلیل آن اثر سالیسیلات بر کمپلکس‌های حاوی آهن از طریق کلات کردن آهن باشد (لیو[6] و همکاران، ۲۰۱۶). به‌طور مثال ژانگ[7] و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش فلزات سنگین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، APOX و GPOX در گیاه خربزه (*Cucumis melo*) شد. در تحقیقی دیگر SA توأم با فلزات سنگین موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه‌های چمن‌مرتعی (*Poa pratensis*) گردید (گوا[8] و همکاران، ۲۰۱۳) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

اثر غلظت‌های مختلف کلریدکبالت، انواع پرایمینگ و اثر ترکیبی این دو عامل بر میزان فعالیت آنزیم POX گیاهچه لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). به‌طور کلی اثر متقابل انواع پرایمینگ و کلریدکبالت نشان داد که هیدروپرایم و هورموپرایمینگ موجب کاهش فعالیت آنزیم POD گیاهچه لوبیا قرمز در تنش کلریدکبالت شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (۲/۴۱ و ۰/۳۳ میکروگرم پروتئین بر دقیقه) به‌ترتیب در تیمار هیدروپرایمینگ در شرایط عدم تنش و تنش ناشی از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت به‌دست آمد (شکل 2c).

نتایج تحقیقات عمواقایی[9] (۲۰۱۱) نشان داد اسموپرایمینگ موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و CAT گیاهچه گندم (*Triticum aestivum*) در تنش شوری می‌گردد (عمواقایی، ۲۰۱۱) که با نتایج پژوهش حاضر همسو است. نتایج تحقیق ایشان نشان داد اسموپرایمینگ فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت (POD، CAT و SOD) را افزایش می‌دهد. فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه‌های پیش‌تیمار شده

[1] Reactive oxygen species
[2] Zeng
[3] Srivastava
[4] Wilkinson
[5] H_2O_2
[6] Liu
[7] Zhang
[8] Guo
[9] Amooaghaie

جدول ۴. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر پرایمینگ و کلریدکبالت بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بذر لوبیا قرمز

Table 4. Analysis of variance (mean squares) for priming and cobalt chloride effect on antioxidant enzymes of French bean seed

منبع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	پروتئین Protein	کاتالاز Catalase	پراکسیداز Peroxidase	پلی فنل‌اکسیداز Polyphenol oxidase
پرایمینگ Priming (P)	3	530.06**	64.469**	0.388**	8.338**
تنش کلریدکبالت Cobalt chloride (C)	2	70.319**	49.310**	2.218**	70.227**
پرایمینگ × تنش P×C	6	494.404**	60.048**	1.572**	10.449**
خطای آزمایش Error	24	4.18	1.109	0.70	0.247
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)	-	8.02	10.352	16.785	7.792

** نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** Indicates significance at the 1% probability level

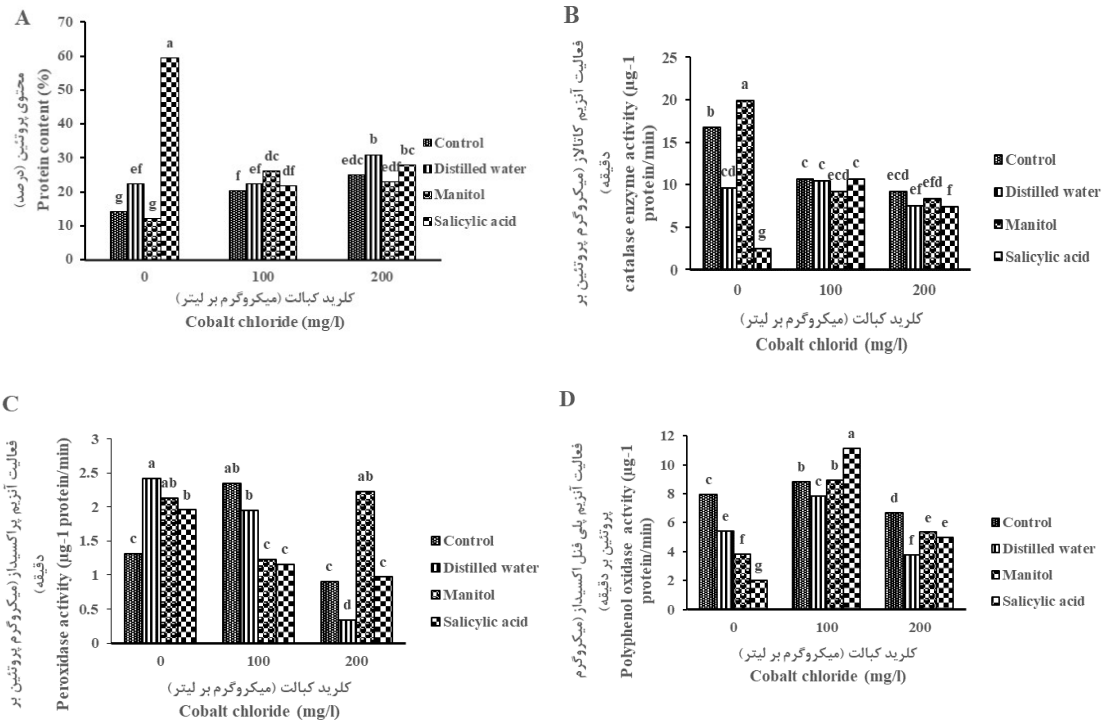
ممکن است سلول را برای مقابله و غلبه بر تنش از طریق تثبیت غشأها و تشکیل یک ظرفیت بالا برای مقاومت در برابر اکسیداسیون آماده کند.

فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که اثر انواع پرایمینگ، غلظت‌های مختلف کلریدکبالت و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. به‌طور کلی میزان تغییرات فعالیت آنزیم پلی‌فنل-اکسیداز[1] (PPO) در اثر تنش ناشی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت در چهار پیش‌تیمار رابطه همسو داشت، به‌طوری‌که کاربرد ۱۰۰ میلی گرم در لیتر کلریدکبالت موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز نسبت به عدم کاربرد و کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکبالت در چهار پیش‌تیمار شد (شکل 2d). از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز وابسته به غلظت کلریدکبالت می‌باشد. به‌عنوان مثال بهترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکبالت مشاهده شد در حالی‌که با افزایش غلظت از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فعالیت آنزیم به میزان (۳۱/۷، ۱۰۵/۹، ۶۷/۳ و ۱۲۴/۸ درصد) به‌ترتیب در تیمارهای شاهد، هیدروپریمینگ، اسموپرایمینگ و هورمون‌پرایمینگ کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد که میزان فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز لوبیا قرمز در اغلب موارد تحت تنش‌های غیرزیستی افزایش می‌یابد. محمودی طرخورانی[2] (۲۰۱۷) گزارش کردند که پرایمینگ بذر آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) با اسیدسالیسیلیک موجب افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی مثل آنزیم‌های CAT، SOD، PPO و POD می‌گردد. هنگامی که اسیدسالیسیلیک در غلظت و زمان مناسب به‌کار برده می‌شود با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز یا آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2 متصل به غشأی سیتوپلاسمی موجب افزایش موقت و جزیی در مقدار H_2O_2 شده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (حیات[3] و همکاران، ۲۰۰۷؛ هورواته[4] و همکاران، ۲۰۰۷).

[1] Polyphenol oxidase

[2] Mahmoodi Tarkhorani
[3] Hayat
[4] Horváth



شکل ۲. اثر انواع پرایمینگ بر محتوای پروتئینی (A) و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (B)، پراکسیداز (C) و پلی‌فنل‌اکسیداز (D) گیاهچه‌های لوبیا قرمز تحت تنش کلریدکبالت. (میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر نمودار نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد).

Fig. 2. Effect of different primings on protein content (A) and activity of catalase (B), peroxidase (C) and polyphenol oxidase (D) enzymes of French bean seedlings under cobalt chloride stress. (Means with non-common letters in each graph indicate significance based on Duncan's test at the 5% probability level).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، کلریدکبالت برخی از صفات فیزیوژیکی و بیوشیمیایی بذر لوبیا قرمز را کاهش داد. با این‌حال، نتایج تحقیق حاضر نشان داد گیاه لوبیا قرمز از توانایی تحمل کلریدکبالت نسبتاً بالایی برخوردار است، به‌طوری که تا ۹ روز نسبت به غلظت‌های مختلف کلریدکبالت تحمل مناسبی نشان داد. به‌طور کلی بذرهای پرایم شده با آب مقطر نسبت به اسموپرایمینگ و هورمون‌پرایمینگ پاسخ بهتری به تنش کلریدکبالت نشان داد. از این‌رو می‌توان گفت هیدروپرایمینگ به‌دلیل عدم استفاده از هر گونه مواد شیمیایی و همچنین به‌دلیل آسان و ارزان بودن مطلوب‌ترین روش برای ارتقای درصد جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه لوبیا قرمز در شرایط تنش‌زا و عدم‌تنش می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مسئولین محترم دانشگاه محقق اردبیلی تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

Abd-Alla, M.H., Bagy, M.K., Wahab A. and Bashandy, S.R. 2014. Activation of *Rhizobium tibeticum* with flavonoids anhances nodulation, nitrogen fixation and growth of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) grown in cobalt polluted soil. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 66(2): 303-315. https://doi.org/10.1007/s00244-013-9980-7

Abdul-Baki, A.A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. Crop science, 13(6): 630-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300060013x

Agrawal, R. 2003. Seed Technology. Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, India, 829p.

Amini, F., Balouchi, H., Movahhedi Dehnavi, M. and Attarzadeh, M. 2015. Effects of different concentrations of heavy metals application on germination indices and seed vigor of Pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Seed Science and Research, 3(2): 95-105. [In Persian with English Summary].

Amoghein, M.B., Amoghein, R.S. Tobeh A. and Jamaati-e-Somarin, S. 2013. The effect of osmopriming and hydropriming on the different index of germination & early growth of wheat under salty stress. International Research Journal of Applied Basic Science, 4: 1924-1931.

Amooaghaie, R. 2011. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. African Journal of Biotechnology, 10(3): 6269-6275. https://doi.org/10.5897/AJB11.1984

Aymen, E.M. 2018. Seed Priming with Plant Growth Regulators to Improve Crop Abiotic Stress Tolerance. In: Rakshit, A. and Singh, H.B. (eds.). Advances in Seed Priming. Institute of Agricultural Sciences, BHU, Varanasi, Uttar Pradesh, India, 95-106. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0032-5_6

Balestrasse, K.B., Gardey, L., Gallego S.M. and Tomaro, M.L. 2001. Response of antioxidant defense system in soybean nodules and roots subjected to cadmium stress. Journal of Plant Physiology, 28: 497-504. https://doi.org/10.1071/PP00158

Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Shakirova, F.M. 2016. Protective effect of wheat germ agglutinin on the course of mitosis in the roots of *Triticum aestivum* seedlings exposed to cadmium. Russian Journal of Plant Physiology, 63(3): 358-364. https://doi.org/10.1134/S102144371603002X

Bose, B., Kumar, M. Singhal, R.K. and Mondal, S. 2018. Impact of Seed Priming on the Modulation of Physico-chemical and Molecular Processes during Germination, Growth, and Development of Crops. In: Rakshit, A. and Singh, H.B. (eds.). Advances in Seed Priming. Institute of Agricultural Sciences, BHU, Varanasi, Uttar Pradesh, India, 23-40. https://doi.org/10.1007/978-981-13-0032-5_2

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chatterjee, C., Gopal, R. and Dube, B.K. 2006. Physiological and biochemical responses of French bean to excess cobalt. Journal of Plant Nutrition, 29: 127-136. https://doi.org/10.1080/01904160500416513

Chaudhari, B.H., Parmar, J.K., Mali, R.H. and Bumbadiya, N.H. 2017. Effect of Co level and FYM on growth and yield of fodder maize. International Journal of Chemical Studies, 5(1): 327-329. https://doi.org/10.18782/2320-7051.2631

Eftekhar, N., Fallah, S., Abbasi Sooraki, A., Khodaverdiloo, H. and Rahimi, A. 2019. Effect of salicylic acid and potassium nitrate pretreatment on enhancing the sunflower tolerance in contaminated soils with cadmium. Iranian Journal of Seed Sciences and Research, 6(2): 161-175. [In Persian with English Summary].

Eskandari, H. 2012. Seed quality variation of crop plants during seed development and maturation. International Journal of Plant Production, 3(11): 557-560.

Ghasemie Pirbaluti, A. and Golparvar, A.R. 2005. A study on morphological and physiological traits of some of the ordinary bean in shahrekord area. In: First National Conference on Pulses. November 20-21, 2005. Ferdowsi University of Mashhad. p88. [In Persian with English Summary].

Gul, F., Arfan, M., Shahbaz, M. and Basra, S. 2020. Salicylic acid seed priming modulates morphology, nutrient relations and photosynthetic attributes of wheat grown under cadmium stress. International Journal of Agriculture and Biology, 23: 197-204.

Guo, Q., Meng, L., Mao, P.C., Jia Y.Q. and Shi, Y.J. 2013. Role of exogenous salicylic acid in alleviating cadmium-induced toxicity in Kentucky bluegrass. Biochemical Systematics and Ecology, 50: 269-276. https://doi.org/10.1016/j.bse.2013.05.002

Hayat, S., Ali, B. and Ahmad, A. 2007. Salicylic acid a plant hormone. In: Hayat, S., Ahmad, A. (eds.). Biosynthesis, metabolism and physiological role in plants. Springer Science & Business Media, 1-14. https://doi.org/10.1007/1-4020-5184-0_1

Horváth, E., Szalai, G. and Janda, T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Journal of Plant Growth Regulation, 26(3): 290-300. https://doi.org/10.1007/s00344-007-9017-4

ISTA., 2009. International rules for seed testing. The International Seed Testing Association. Zurich. Switzerland.

Jadoon, S. and Malik, A. 2018. A Review of formation, toxicity of reactive oxygen species by heavy metals and tolerance in plants. International Journal of Biochemistry Research and Review, 21(2): 1-12. https://doi.org/10.9734/IJBCRR/2018/38670

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

Karuppanapandian, T. and Kim, W. 2013. Cobalt-induced oxidative stress causes growth inhibition associated with enhanced lipid peroxidation and activates antioxidant responses in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) leaves. Acta Physiologiae Plantarum, 35: 2429-2443. https://doi.org/10.1007/s11738-013-1277-y

Khazaei, H.R., Nezami, A., Saadatian, B., Pishe, O.A. and Pordel, R. 2016. Effect of seed priming on seedling growth of barley (*Hordeum vulgare* L.), under salinity stress in phytogel. Environmental Stresses Crop Sciences, 9(1): 87-97. [In Persian with English Summary].

Kranner, I. and Colville, L. 2011. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. Environmental and Experimental Botany, 72: 93-105. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.05.005

Liu, Z., Ding, Y., Wang, F., Ye, Y. and Zhu, C. 2016. Role of salicylic acid in resistance to cadmium stress in plants. Plant Cell Reports, 35(4): 719-731. https://doi.org/10.1007/s00299-015-1925-3

Lwalaba, J.L.W., Zvobgo, G., Fu, L., Zhang, X., Mwamba, T.M., Muhammad, N., Mundende, R.P.M. and Zhang, G. 2017a. Alleviating effects of calcium on cobalt toxicity in two barley genotypes differing in cobalt tolerance. Ecotoxicology and Environmental Safety, 139: 488-495. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.02.019

Lwalaba, J.L.W., Zvobgo, G., Mwamba, M., Ahmed, I.M., Mukobo, R.P.M. and Zhang, G. 2017b. Subcellular distribution and chemical forms of CO_2+ in three barley genotypes under different CO_2+ levels. Acta Physiologiae Plantarum, 39(4): 102. https://doi.org/10.1007/s11738-017-2400-2

Mahmoodi Tarkhorani, S., Sanjarian Dehaghani, F. and Monsef Shokri, M. 2017. The effect of salicylic acid treatment on the antioxidant enzyme activities in *Thymus vulgaris* seedlings. Modares Journal of Biotechnology, 10(1): 37-44. [In Persian with English Summary].

Marquez Garsia, B., Marquez, C., Sanjose, I., Nieva, F.J.J., Rodriguez Rubio, P. and MunozRodriguez, A.F. 2013. The effects of heavy metals on germination and seedling characteristics in two halophyte species in Mediterranean marshes. Marine Pollution Bulletin, 70: 119-124. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.019

Mousavi, S.E., Omidi, H., Mirshekar, Sh. and Bazvand, F. 2019. Effects of priming on germination, growth and physiologic indices in mother line seed of rapeseed (*Brassica napus* L.) Neptunecultivar under drought stress. Journal of Seed Research, 9(3): 11-21. [In Persian with English Summary].

Muthaura, C., Mucheru-Muna, M., Zingore, S., Kihara, J. and Muthamia, J. 2017. Effect of application of different nutrients on growth and yield parameters of maize (*Zea mays*), case of Kandara Murang'a County. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 12(1): 19-33.

Nouairi, I., Jalali, K., Zribi, F., Barhoumi, F., Zribi, K. and Mhadhbi, H. 2019. Seed priming with calcium chloride improves the photosynthesis performance of faba bean plants subjected to cadmium stress. Photosynthetica, 57(2): 438-445. https://doi.org/10.32615/ps.2019.055

Serida, K., Mohammad, B.A., Eun, J.H. and Kee, Y.P. 2008. Copper toxicity in *Withania somnifera*: growth and antioxidant enzymes responses of in vitro grown plants. Environmental and Experimental Botany, 64: 279-285. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.02.004

Sharma, V., Naugraiya, M.N. and Tomar, G.S. 2018. Toxic effects of cobalt, chromium, lead and nickel chloride on growth performance of siris (*Albizia* spp.). International Journal of Chemical Studies, 6: 2407-2410.

Shulan, Z., Qing, L., Yanting, Q. and Lian, D. 2010. Responses of root growth and protective enzymes to copper stress in turf grass. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 52(2): 7-11. https://doi.org/10.2478/v10182-010-0017-5

Singh, H., Jassal, R.K., Keng, J.S., Sandhu, S.S., Kang H. and Grewal, K. 2015. Seed priming techniques in field crops - a review. Agricultural Review, 36(4): 251-264. https://doi.org/10.18805/ag.v36i4.6662

Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E. and Latifi, N. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea voasts of Iran. Seed Science and Technology, 29(3): 653-662.

Srivastava, S., Srivastava, A.K., Suprasanna, P. and D'Souza, S.F. 2013a. Identification and profiling of arsenic stress induced microRNA in *Brassica juncea*. Journal of Experimental Botany, 64(1): 303-315. https://doi.org/10.1093/jxb/ers333

Srivastava, S., Verma, P.C., Chaudhary, V., Singh, N., Abhilash, P.C. and Kumar, K.V. 2013b. Influence of inoculation of arsenic-resistant *Staphylococcus arlettae* on growth and arsenic uptake in *Brassica juncea* (L.) Czern. var. R-46. Journal of Hazardous Materials, 262: 1039-1047. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.08.019

Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara Kumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science, 167: 613-619. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2

Wael, M.S., Mostafa, M.R., Taia, A.A.E.M., Saad, M.H. and Magdi, T.A. 2015. Alleviation of cadmium toxicity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants by the exogenous application of salicylic acid. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 90(1): 83-91. https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11513157, https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11513156

Wendling, L.A., Kirby, J.K. and McLaughlin, M.J. 2009. Aging effects on cobalt availability in soils. Environmental Toxicology and Chemistry, 28(8): 1609-1617. https://doi.org/10.1897/08-544.1

Wilkinson, S., Kudoyarova, G.R., Veselov, D.S., Arkhipova, T.N. and Davies, W.J. 2012. Plant hormones interactions: Innovative target for plant breeding and management. Journal of Experimental Botany, 63(9): 3499-3509. https://doi.org/10.1093/jxb/ers148

Wyszkowski, M., Wyszkowska, J. and Radziemska, M. 2009. Macroelement content in field of oats (*Avena sativa* L.) cultivated on soils contaminated with copper, zinc, tin, cobalt and manganese. Ecological Chemistry and Engineering. A, 16(10): 1387-1394.

Zeng, L., Yang, Y., Sun, Y., Du, Z., Xie, Z., Zhou, T. and Kong, W. 2014. Age-Related Decrease in the Mitochondrial Sirtuin Deacetylase Sirt3 Expression Associated with ROS Accumulation in the Auditory Cortex of the Mimetic Aging Rat Model. PLOS one, 9(2): e88019. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088019

Zhang, Y., Xu, S., Yang, S. and Chen, Y. 2015. Salicylic acid alleviates cadmium-induced inhibition of growth and photosynthesis through upregulating antioxidant defense system in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.). Protoplasma, 252(3): 911-924. https://doi.org/10.1007/s00709-014-0732-y

Iranian Journal of Seed Research, 2022, 9(1): 111-126

Research Article

The effect of priming on physiological and biochemical traits of French bean (*Phaseolus vulgaris*) under cobalt chloride stress

Khadijeh Sourazar[1, *], Mohammad Sedghi[2], Raouf Seyed Sharifi[2]

Extended Abstract

Introduction: The germination stage ensures the durability, establishment, and final yield of plants. The final density of plants per unit area is resulted when the planted seeds germinate fully and with adequate rate. Plants mainly undergo abiotic stresses that are a considerable constraint for agricultural production worldwide. Seed priming is one of the simplest and cheap methods to improve seed germination, acceleration of seedling growth and establishment, uniformity, reduction of flowering time, vigorous seedling production, etc which leads to improved quality and yield of crop under stressful and non-stressful conditions. This study aimed to investigate the effect of different types of priming on enzymatic and physiological changes of French bean seed under cobalt chloride stress conditions.

Materials and Methods: To examine the effect of priming on germination indices, the activity of antioxidant enzymes and proteins in French bean under cobalt chloride stress, a factorial experiment was performed in a completely randomized design with three replications. These factors included four levels: seed priming with 100 mg / l salicylic acid and mannitol, control and distilled water (no priming), and three levels of cobalt chloride stress (0, 100, and 200 mg / l).

Results: The results showed that with increasing cobalt chloride concentration, germination indices (germination rate, root length, root fresh weight, stem fresh weight and stem dry weight) decreased. However, in the pretreatment of distilled water, salicylic acid, and mannitol there was a significant increase in germination indices (mean germination time, radicle length, plumule length, fresh radicle weight, and weight plumule) was observed. The interaction effect of priming and cobalt chloride caused an increase in radicle dry weight compared to control × stress treatment. The highest values of fresh radicle weight (14.4 g), dry weight of plumule (0.27 g), and plumule length (0.17 cm) were obtained in hydro priming pretreatment. The results also showed that hormone priming under stress conditions of 200 and 100 mg / l cobalt chloride increased protein content and polyphenol oxidase activity of French bean seedlings compared with the control treatment, respectively. Osmo priming increased the activity of catalase and peroxidase enzymes under stress and non-stress conditions resulted by 200 mg / l cobalt chloride.

Conclusion: according to the results of the present study, cobalt chloride reduced some physiological and biochemical traits of French bean seeds. However, the French bean has a relatively high cobalt chloride tolerance capacity, so that it showed good tolerance to different concentrations of cobalt chloride for up to 9 days.

Keywords: ***Antioxidant enzymes, Cobalt chloride, French bean, Germination, Mannitol***

Highlights:

1- The effect of different concentrations of cobalt chloride and different types of priming on the germination of French bean seeds was investigated.

2- French bean seedling protein content increased under the influence of hormone priming.

[1] Ph.D. Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabilli, Ardabil, Iran.

[2] Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

[*]Corresponding author, E-mail: k_sourazar@uma.ac.ir

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1401.9.1.6.7

DOI: 10.52547/yujs.9.1.111

(Received: 01.14.2022; Accepted: 05.23.2022)