Iranian Journal of Seed Research, 2024, 10(2): 21-35

Research Article

# The effect of chitosan priming on germination indices and biochemical characteristics of French bean seeds (*Phaseolus vulgaris* cv. Sadri) under salinity stress

**Haniyeh Saadat[1*], Mohammad Sedghi[2], Raouf Seyed Sharifi[2], Salim Farzaneh[3]**

**Extended Abstract**

**Introduction:** At present, the drastic increase in population has created an additional burden on the world's agricultural resources. As a result, meeting global food demand and increasing farmers' incomes has become a challenging task. Salinity is one of the abiotic stresses that strongly affect the germination, growth, and yield of crops. Seed priming is a simple technology that hydrates seeds to the point where the metabolic activity for germination is initiated without radicle emergence. In fact, the seeds are physiologically and biochemically prepared to germinate before being placed in their bed and exposed to environmental conditions. This research was conducted to investigate the effect of seed priming with chitosan on germination indices and biochemical traits of beans under salt stress.

**Materials and Methods:** This experiment was conducted at the University of Mohaghegh Ardabili in 2021 as a factorial in the form of a completely randomized design with four repetitions. The treatments included four levels of salinity (0, 50, 100, and 150 mM) and four levels of chitosan (0, 0.25, 0.50, and 0.75% w/v), all of which were dissolved in 1% acetic acid.

**Results:** The results showed that salinity stress decreased germination percentage (GP), peak value (PV), and germination value (GV). However, seed priming with different levels of chitosan, especially 0.75% chitosan, improved GP, PV, and GV by 7, 21, and 17%, respectively, compared to the control. Proline content and polyphenol oxidase enzyme activity went up with increasing salinity. However, the application of chitosan 0.75% increased these traits by 34% and 43%, respectively, compared to the control (priming with distilled water). Electrolyte leakage in priming with 0.75% chitosan decreased by 31% compared to the control, which indicates the maintenance of the cell membrane stability. The content of soluble sugars in the treatment with 0.75% chitosan and 150 mM salinity showed an increase of about 78% compared to the control. The highest correlation among traits was observed between peak value and germination coefficient ($r^2$=0.99) and between proline and polyphenol oxidase enzyme ($r^2$=0.92).

**Conclusions:** The results of this study show that among the different treatments, pre-treatment of seeds with 75 % Chitosan may be considered an effective way to improve germination indices and biochemical characteristics of beans and it can be used as a treatment to deal with salinity conditions in bean seedlings and improve their seedling growth.

***Keywords: Chitosan, Priming, Proline, Sodium Chloride, Soluble Sugars***

***Highlights*:**

1- Seed priming using chitosan improved germination indices of common bean seeds under salt stress.
2- Priming with chitosan increased proline and polyphenol oxidase enzyme.
3- A chitosan concentration of 0.75 V/W showed a better effect on germination indices and biochemical characteristics.
4- Priming with chitosan can be a suitable method to mitigate the negative effects of salinity, increase germination indices, and improve the biochemical characteristics of beans.

[1] Ph.D. student of Ecology, Agriculture Department, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
[2] Professor of Agriculture Department, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
[3] Assistant Professor of Agriculture Department, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

*Corresponding author, E-mail: t.saadat2020@gmail.com

Received: 19.1.2023; Revised: 5.4.2023;
Accepted: 20.4.2023; Online Published: 21.1.2024

DOR:
DOI: 10.61186/yujs.10.2.21

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: ۳۵-۲۱

مقاله پژوهشی

# اثر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris*) رقم صدری تحت تنش شوری

هانیه سعادت*[1]، محمد صدقی[2]، رئوف سید شریفی[2]، سلیم فرزانه[3]

**چکیده مبسوط**

**مقدمه: در حال حاضر، افزایش جمعیت به‌طرز گسترده، بار اضافی بر منابع کشاورزی دنیا ایجاد کرده است. در نتیجه، دستیابی به تقاضای جهانی غذا و افزایش درآمد کشاورزان به یک کار چالش برانگیز تبدیل شده است. شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی است که به شدت بر جوانه‌زنی، رشد و بازده محصولات زراعی اثر می‌گذارد. پرایمینگ بذر یک فناوری ساده است که بذرها را تا جایی آبگیری می‌کند که فعالیت متابولیکی برای جوانه‌زنی آغاز شود، اما ریشه‌چه خارج نشود. در واقع، بذرها پیش از قرار گرفتن در بستر خود و مواجهه با شرایط محیطی، از لحاظ فیزیولوژیک و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به‌دست می‌آورند. این پژوهش با هدف بررسی اثر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی لوبیا چیتی تحت تنش شوری اجرا گردید.**

**مواد و روش‌ها: این آزمایش در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار 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 که همه در اسید استیک یک درصد حل شده بودند.**

**یافته‌ها: نتایج نشان داد که شوری درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی را کاهش داد، ولی پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان، به‌ویژه کیتوزان ۰/۷۵ درصد، درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی را به ترتیب ۷، ۲۱ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. با افزایش شوری میزان پرولین و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز افزایش یافت، ولی کاربرد کیتوزان ۰/۷۵ درصد این صفات را به ترتیب ۳۴ و ۴۳ درصد نسبت به شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) افزایش داد. نشت الکترولیت در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد نسبت به شاهد ۳۱ درصد کاهش نشان داد، که بیانگر حفظ پایداری غشای سلولی است. میزان قندهای محلول در تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در حدود ۷۸ درصد افزایش نشان داد. بالاترین میزان همبستگی بین صفات ارزش حداکثر با ضریب جوانه‌زنی ($r^2$=۰/۹۹) و پرولین با آنزیم پلی فنول اکسیداز ($r^2$=۰/۹۲) مشاهده شد.**

**نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که در بین تیمارهای مورد مطالعه، پیش‌تیمار بذر با کیتوزان ۰/۷۵ درصد مؤثرترین روش برای بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی بذر لوبیا چیتی محسوب می‌شود و می‌توان از آن به عنوان یک تیمار جهت مقابله با شرایط شوری در گیاهچه لوبیا چیتی استفاده کرد و رشد گیاهچه را بهبود بخشید.**

**واژه‌های کلیدی: پرایمینگ، پرولین، قندهای محلول، کلرید سدیم، کیتوزان**

**جنبه‌های نوآوری:**

۱- پرایمینگ بذر با استفاده از کیتوزان سبب بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذر لوبیا چیتی تحت تنش شوری گردید.
۲- پرایمینگ با کیتوزان پرولین و آنزیم پلی فنل اکسیداز را افزایش داد.
۳- غلظت ۰/۷۵ درصد وزنی-حجمی کیتوزان تاثیر بهتری بر شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی نشان داد.
۴- پرایمینگ با کیتوزان می‌تواند روش مناسب جهت کاهش اثرات سوء شوری، افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و بهبود صفات بیوشیمیایی لوبیا چیتی باشد.

[1] دانشجوی دکتری اکولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[2] استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[3] استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

*رایانامه نویسنده مسئول: t.saadat2020@gmail.com

DOR:
DOI: 10.61186/yujs.10.2.35
شاپا: ۱۴۸۰-۲۳۸۳ (برخط)؛۱۲۵۱-۲۳۸۳ (چاپی)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۹؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۳۱؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۱۱/۱

**مقدمه**

حبوبات از مهم‌ترین محصولات کشاورزی محسوب می‌شوند، که نقش اساسی را در برنامه غذایی اغلب مردم جهان ایفا می‌کنند و به‌عنوان اصلی‌ترین منبع پروتئین گیاهی و دومین منبع تغذیه‌ای انسان بعد از غلات به شمار می‌روند (داودی[1] و همکاران، ۲۰۱۸). لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) گیاهی یکساله و یکی از پرمصرف‌ترین حبوبات در سراسر دنیا است که از نظر تغذیه‌ای منبع عالی کربوهیدرات (تا ۶۰ درصد)، پروتئین (۲۰ تا ۲۷ درصد)، فیبر (تا ۲۸ درصد)، ویتامین‌ها و مواد معدنی (۴ تا ۶ درصد) و دارای چربی کمی می‌باشد (پیترا و آرنتفیلد[2]، ۲۰۱۹).

شوری نمونه‌ای از تنش غیرزیستی است که به شدت بر جوانه‌زنی، رشد و بازده محصولات زراعی اثر می‌گذارد (ایسایانکو و ماتوییس[3]، ۲۰۱۹) همچنین، موجب تنش اسمزی در گیاهان زراعی می‌شود و این امر منجر به عدم تعادل در سطوح سلولی، مولکولی و فیزیولوژیکی شده و در نتیجه منجر به مرگ و میر گیاهان می‌گردد (آرون و همکاران[4]، ۲۰۲۲). طبق آمارهای اخیر، شوری تقریباً ۰/۸۰ میلیارد هکتار از زمین را مختل می‌کند و استفاده از زمین برای اهداف کشاورزی را به شدت محدود می‌سازد (گوپالاکریشنان و کومار[5]، ۲۰۲۰). شوری موجب تنش ناشی از تغییرات اسمزی، سمیت یونی و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن شده و این گونه‌های فعال اکسیژن مولکول‌های واکنش‌گری هستند که موجب تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی، آسیب به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و غیرفعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شوند (سینگ[6]، ۲۰۱۷). برای مقابله با تنش شوری، گیاهان سازوکارهای متنوعی را تکامل داده‌اند و اصلاح‌گران گیاهان از روش‌های مختلفی مانند پرایمینگ بذر استفاده می‌کنند (رحمان[7] و همکاران، ۲۰۲۱b).

پرایمینگ یک فناوری ساده است که بذرها را تا جایی آبگیری می‌کند که فعالیت متابولیکی برای جوانه‌زنی آغاز شود، اما ریشه‌چه خارج نشود (رحمان و همکاران، ۲۰۲۱b). این روش می‌تواند به انواع محصولات زراعی که جوانه‌زنی و سبز شدن آن‌ها به دلیل شرایط نامساعد با مشکل مواجه می‌شود، کمک کند. پرایمینگ با ایجاد انواع تغییرات متابولیکی در بذر باعث تحریک جوانه‌زنی شده و در نهایت به سبز شدن سریع و همگن و همچنین، استقرار گیاهچه‌های قوی منجر می‌شود (ژوو[8] و همکاران، ۲۰۲۱). علاوه بر این، پرایمینگ بذر با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، هموستازی یونی و ویژگی‌های فتوسنتزی، تنش‌های غیرزیستی به‌خصوص شوری در گیاهان را کاهش می‌دهد (رحمان و همکاران، ۲۰۲۱b). کیتوزان یک پلی‌ساکارید کاتیونی فراوان است که به‌وسیله قارچ‌ها، حشرات و سخت پوستان تولید می‌شود، تأثیر مثبتی بر رشد و بهره‌وری بسیاری از گیاهان داشته و دارای فعالیت‌های ضد میکروبی است (مالربا و سرانا[9]، ۲۰۱۶). پرایمینگ با کیتوزان شاخص‌های جوانه‌زنی را بهبود می‌بخشد که به نوبه خود منجر به رشد بهتر گیاهچه‌های اولیه می‌گردد. نشان داده شده است که کیتوزان موجب افزایش پاسخ‌های زیستی متنوعی در گیاهان، بسته به غلظت آن و گونه‌های گیاهی می‌شود.

استفاده از کیتوزان سازوکارهای تحمل را در برابر تنش شوری در لوبیا افزایش می‌دهد (زاید[10] و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، با افزایش سطوح تنش شوری از شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز کاسته شد، ولی تیمارهای پرایمینگ سبب افزایش آن‌ها گردید (سهرابیانی[11] و همکاران، ۲۰۱۸).

هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثر سطوح مختلف کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی و تحت تنش شوری بر میزان درصد جوانه‌زنی، ارزش جوانه‌زنی و

[1] Davodi
[2] Pitura and Arntfield
[3] Isayenkov and Maathuis
[4] Arun
[5] Gopalakrishnan and Kumar
[6] Singh
[7] Rhaman
[8] Zhu
[9] Malerba and Cerana
[10] Zayed
[11] Sohrabiani

جوانه‌زنی حداکثر و برخی صفات بیوشیمیایی جهت تعدیل اثرات سوء ناشی از تنش شوری بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۴۰۰ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی به‌منظور مطالعه اثر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی در لوبیا چیتی رقم صدری در شرایط تنش شوری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار ) 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 (کیتوزان نامحلول در آب است، ولی در اسیدهای رقیق مانند اسیداستیک حل می‌شود). بذر گواهی شده لوبیا چیتی تولید ۱۳۹۹ بود که از مرکز تحقیقات خمین تهیه شده بود. ابتدا بذرها درون محلول‌های پرایمینگ و آب مقطر به‌مدت ۱۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس غوطه‌ور شدند (صورآذر[1] (صورآذر[1] و همکاران، ۲۰۲۱). بعد از پرایمینگ، بذرها بذرها به‌وسیله آب مقطر شستشو و در دمای آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت خشک گردیدند. سپس، آزمون جوانه‌زنی به صورت ردیفی (کشت لوله‌ای یا ساندویچی) بین کاغذ صافی در چهار تکرار ۵۰ بذری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت هفت روز انجام گرفت. در این روش، ۵۰ عدد بذر به صورت ردیفی روی یک لایه از کاغذ صافی قرار گرفت و به هر کاغذ صافی محلول شوری (کلرید سدیم) با سطوح مختلف به مقدار ۱۲ میلی‌لیتر اضافه گردید (شکل ۱). سپس، کاغذ صافی دیگری روی بذرها گذاشته و به شکل لوله پیچانده شد و در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس به‌صورت عمودی قرار داده شد. برای محاسبه ارزش حداکثر رابطه ۱ و ارزش جوانه‌زنی رابطه ۲ (هارتمن[2] و همکاران، ۲۰۰۵) استفاده شد.

رابطه ۱ $PV= Na/Ta$

PV: ارزش حداکثر، Na: درصد تجمعی جوانه‌زنی در نقطه حداکثر، Ta: تعداد روز تا رسیدن به نقطه حداکثر

رابطه ۲ $GV= MDG \times PV$

GV: ارزش جوانه‌زنی، MDG: میانگین جوانه‌زنی روزانه، PV: ارزش حداکثر

**درصد جوانه‌زنی:** در پایان دوره جوانه‌زنی (۷روز) تعداد کل بذرهای جوانه زده شمارش و یاداشت شد.

**اندازه‌گیری میزان پایداری غشا (درصد نشت الکترولیت‌ها):** از برگچه‌های هر تکرار ۶ دیسک دایره‌ای به اندازه یکسان تهیه شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. هدایت الکتریکی هر نمونه پس از گذشت ۲۴ ساعت با استفاده از هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش در حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه قرار داده شدند و بعد از سرد شدن در دمای اتاق پس از ۲۴ ساعت مجددا هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC2) اندازه‌گیری گردید. محاسبه درصد نشت الکترولیت با استفاده از رابطه ۳ انجام گرفت (ریتچی[3] و همکاران، ۱۹۹۰).

رابطه ۳

$$\text{درصد نشت الکترولیت} = (EC1/EC2) \times 100$$

**سنجش میزان پرولین:** سنجش میزان پرولین براساس روش بیتس[4] و همکاران (۱۹۷۳) انجام گردید. در این روش ۰/۵ گرم از ریشه‌چه با ۵ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک له گردید. پس از صاف کردن با صافی از مخلوط همگن حاصل، ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و بعد از اضافه کردن ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص در بن‌ماری به مدت یک ساعت با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد.

[1] Sourazar
[2] Hartman
[3] Ritchie
[4] Bates

**شکل ۱.** روش کشت لوبیا چیتی

**Figure 1.** Cultivation method of common bean

سپس نمونه‌ها به حمام آب یخ منتقل و بعد از اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد.

**سنجش قندهای محلول:** میزان قندهای محلول به روش فنل سولفوریک (کوچرت[1]، ۱۹۷۸) و براساس هیدرولیز اسیدی قندهای محلول و ایجاد ترکیب فورفورال که با فنل تولید یک کمپلکس رنگی می‌کند، اندازه‌گیری شد. در این روش، ۰/۵ گرم از ریشه‌چه با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر به‌وسیله هاون خوب ساییده گردید. پس از صاف کردن، از عصاره گیاهی حاصل ۲ میلی‌لیتر برداشته شد و بعد از افزودن ۱ میلی‌لیتر فنل (۵٪ وزنی- حجمی) و ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪، لوله‌ها به مدت ۱ ساعت به حال خود رها شدند تا رنگ ظاهر و تثبیت شود. پس از ظهور رنگ، میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد قند گلوکز، میزان قند در ریشه‌چه تحت تیمار بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

**سنجش پلی فنل اکسیداز:** برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ابتدا ۰/۵ گرم نمونه تر در حمام یخ در داخل هاون چینی ساییده شد سپس، با ۱ میلی‌لیتر بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار با pH ۷/۵ هموژن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و برای اندازه‌گیری میزان آنزیم محلول شناور رویی مورد استفاده قرار گرفت (سودهاکار[2] و همکاران، ۲۰۰۱).

سنجش پلی فنل اکسیداز براساس روش کارو و میشرا[3] (۱۹۷۶) انجام گرفت. محلول واکنش شامل ۱/۵ میلی لیتر بافر تریس (۵۰ میلی‌مولار با pH= ۷) و ۰/۳ میلی‌لیتر پیروگالل (۵ میلی‌مولار) تهیه شد و بعد از افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، محلول حاصل در بن‌ماری با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و میزان جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. یک نمونه به‌عنوان شاهد برای مقایسه فعالیت آنزیم در نظر گرفته شد که در این نمونه به جای ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی از بافر تریس-کلریدریک ۰/۰۵ مولار استفاده گردید. در نهایت فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز براساس میزان تغییرات جذب در میکروگرم پروتئین بر دقیقه محاسبه گردید.

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید.

[1] Kochert

[2] Sudhakar

[3] Karo and Mishra

**جدول ۱.** تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کیتوزان و شوری بر صفات مطالعه شده در لوبیا چیتی

**Table 1.** Analysis of variance (mean square) for the effect of chitosan and salinity on studied traits in common bean

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی D.F. | درصد جوانه‌زنی Germination (%) | ارزش حداکثر Peak value | ارزش جوانه‌زنی Germination Value | درصد نشت الکترولیت Electrolyte leakage | محتوای پرولین Proline | محتوای قندهای محلول Soluble sugars | فعالیت پلی فنول اکسیداز Polyphenol oxidase |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کیتوزان Chitosan (C) | 3 | 125.3** | 11493.7** | 39.31** | 633.1** | 138.296** | 2.548** | 97.119** |
| شوری Salinity (S) | 3 | 849.17** | 206981.6** | 841.06** | 4010.6** | 58.032** | 2.576** | 45.627** |
| C×S | 9 | 5.9ns | 1005.24ns | 6.07ns | 7.7 ns | 0.607ns | 0.434** | 0.9607ns |
| خطا Error | 48 | 4.7 | 1105.49 | 6.267 | 30.8 | 0.659 | 0.105 | 0.644 |
| ضریب تغییرات (درصد) CV (%) | | 2.4 | 12.11 | 11.91 | 13.5 | 4.768 | 28.284 | 7.625 |

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای یک درصد.

ns and ** indicate not significant and significant difference at p<0.01, respectively.

## نتایج و بحث

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نتایج پژوهش نشان داد که اثر ساده کیتوزان و شوری بر درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر، ارزش جوانه‌زنی، نشت الکترولیت، پرولین، آنزیم پلی فنل اکسیداز و اثر متقابل آن‌ها بر روی قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

**درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی:** بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۹۳/۰۶ درصد)، ارزش حداکثر (۳۰۴/۱۵) و ارزش جوانه‌زنی (۲۲/۵۹) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی و کم‌ترین این صفات (به ترتیب ۸۶/۸۱، ۸۴/ ۲۳۹ و ۱۸/۸۶) در شاهد (آب مقطر) مشاهده گردید و این صفات با تشدید شوری کاهش یافتند. به‌طوری که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی (۹۶/۶۹ درصد)، ارزش حداکثر (۴۲۷/۹۸) و ارزش جوانه‌زنی (۳۰/۹۸) در شاهد (بدون شوری) و کم‌ترین آن‌ها (به‌ترتیب ۸۰/۳۱٪، ۱۶۰/۸۷ و ۱۳/۹۷) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود. بر طبق نتایج به دست آمده می‌توان گفت که با افزایش سطوح شوری از درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی کاسته می‌شود (جدول ۲ و ۳). تنش شوری جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های متابولیسمی و کاهش میزان جذب آب توسط بذر که ناشی از پایین آمدن پتانسیل اسمزی است، می‌شود (رجبی دهنوی[1] و همکاران، ۲۰۲۱). این تنش گیاه را از طریق سمیت یونی، کمبود عناصر مورد نیاز و آب، تنش اسمزی، تخریب غشای سلولی و کاهش تقسیم سلولی تحت تأثیر قرار می‌دهد (یاداو[2] همکاران، ۲۰۱۹). در این تحقیق، تنش شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی شد و پرایمینگ با کیتوزان آن را بهبود بخشید. کاهش جوانه‌زنی در نتیجه تنش شوری احتمالا به علت کاهش شیب پتانسل آب بین بذرها و محیط اطراف آن باشد که درنهایت باعث اختلال در سنتز آنزیم‌های ضروری برای جوانه‌زنی می‌شود (کایدان و یاگمور[3]، ۲۰۰۸). پرایمینگ موجب

[1] Rajabi Dehnavi
[2] Yadav
[3] Kaydan and Yagmur

**جدول ۲.** مقایسه میانگین اثر پرایمینگ با کیتوزان بر صفات مطالعه شده در لوبیا چیتی

**Table 2.** Mean comparison for the effect of priming by chitosan on studied traits in common bean

| پرایمینگ Priming | ارزش حداکثر Peak value | ارزش جوانه‌زنی Germination Value | درصد نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%) | محتوای پرولین Proline (µM $g^{-1}$ FW) | محتوای قندهای محلول Soluble sugars ($mgg^{-1}$FW) | فعالیت پلی فنول اکسیداز Polyphenol oxidase (ΔOD /µg Protein min) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | 86.81 c | 239.84 c | 18.86 b | 33.51 c | 13.05 d | 7.71 d |
| کیتوزان ۰/۲۵٪ Chitosan 0.25% | 88 c | 271.89 b | 21.13 a | 40.29 b | 16.785 c | 9.52 c |
| کیتوزان ۰/۵۰٪ Chitosan 0.50% | 90.70 b | 282.72 ab | 21.48 a | 41.24 b | 18.405 b | 11.45 b |
| کیتوزان ۰/۷۵٪ Chitosan 0.75% | 93.06 a | 304.15 a | 22.60 a | 48.87 a | 19.885 a | 13.43 a |

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences at $p<0.05$.

**جدول ۳.** مقایسه میانگین اثر شوری بر صفات مطالعه شده در لوبیا چیتی

**Table 3.** Mean comparison for the effect of salinity on studied traits in common bean

| شوری Salinity | ارزش حداکثر Peak value | ارزش جوانه‌زنی Germination Value | درصد نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%) | محتوای پرولین Proline (µM $g^{-1}$ FW) | محتوای قندهای محلول Soluble sugars ($mgg^{-1}$FW) | فعالیت پلی فنول اکسیداز Polyphenol oxidase (ΔOD /µg Protein min) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | 96.69 a | 427.98 a | 30.98 a | 24.58 d | 15.01 d | 8.72 d |
| شوری ۵۰ میلی‌مولار Salinity 50 (mM) | 93.94 b | 282.90 b | 21.06 b | 33.36 c | 16.13 c | 9.68 c |
| شوری ۱۰۰ میلی‌مولار Salinity 100 (mM) | 87.65 c | 226.85 c | 18.05 c | 44.72 b | 17.56 b | 11.14 b |
| شوری ۱۵۰ میلی‌مولار Salinity 150 (mM) | 80.31 d | 160.87 d | 13.97 d | 61.25 a | 19.42 a | 12.58 a |

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۵ درصد است.

Different letters in each column indicate significant differences at $p<0.05$.

افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون و آسکوربات در بذر شده و این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طول جوانه‌زنی کاهش داده و درنهایت موجب افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود (پاتاد[1] و همکاران، ۲۰۰۹). بیش‌ترین ارزش جوانه‌زنی در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد به‌دست آمد. به نظر می‌رسد تأثیر منفی تنش شوری بر جذب آب و تغییر در پتانسیل ردوکس (اکسایش-کاهش) باعث به‌دست آمدن این نتایج شده است. نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که شوری ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد (شاکری[2] و همکاران، ۲۰۲۲) و پرایمینگ باعث افزایش درصد جوانه‌زنی، ارزش حداکثر و ارزش جوانه‌زنی می‌شود (آباده[3] و همکاران، ۲۰۲۲). در مجموع، اثر کیتوزان بر رشد گیاه را می‌توان به افزایش در دسترس بودن و جذب آب و مواد مغذی ضروری از طریق تنظیم فشار اسمزی سلول و کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد مضر با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و آنزیم‌ها نسبت داد (گان[4] و همکاران، ۲۰۰۹).

**درصد نشت الکترولیت:** بیش‌ترین نشت الکترولیت (۴۸/۸۷ درصد) در شاهد (آب مقطر) و کم‌ترین این صفات (۳۳/۵۱ درصد) در پیش‌تیمار با

[1] Patade
[2] Shakeri
[3] Abadeh
[4] Guan

کیتوزان ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی حاصل گردید و این صفت با تشدید شوری افزایش یافت، که بیانگر کاهش پایداری غشا است. به‌طوری که بیش‌ترین نشت الکترولیت (۶۱/۲۵ درصد) در شوری۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۲۴/۵۸ درصد) در شاهد (بدون شوری) مشاهده شد ( جدول ۲ و ۳). یکی از تأثیرات بارز تنش‌های محیطی بر گیاهان، تخریب غشاهای سلولی است. در واقع، تنش‌های محیطی با تأثیر بر سلامت غشاها که به‌طور عمده از اسیدهای چرب، ترکیبات پروتئینی و کربوهیدرات‌ها تشکیل شده‌اند، فرآیندهای گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (مونس و جامس[1]، ۲۰۰۳). هدایت الکتریکی میزان پایداری غشا را نشان می‌دهد. اگر غشا پایداری خود را از دست بدهد میزان نشت یونی افزایش یافته و در نتیجه هدایت الکتریکی افزایش می‌یابد و بالعکس. شوری باعث تخریب غشای سلولی می‌شود. محققین علت تخریب غشای سلولی را افزایش تجمع یون سدیم در بافت گیاه و تأثیر منفی آن بر ساختار غشای سلولی و آسیب یونی ناشی از تنش شوری می‌دانند که باعث افزایش هدایت الکتریکی محلول بذر می‌شود. در این تحقیق، بذرهای پرایم شده از نشت الکترولیت کمتری نسبت به شاهد برخوردار بودند که بیانگر تاثیر کیتوزان روی بهبود غشای سلولی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است. پیش‌تیمار بذر از طریق سنتز DNA و mRNA باعث ترمیم صدمات وارده به غشا شده و در نهایت موجب کاهش هدایت الکتریکی بذر می‌شود (واریر[2] و همکاران، ۲۰۱۰).

**محتوای پرولین**: بیش‌ترین مقدار پرولین (۱۹/۸۹ میکرومول بر گرم وزن تر) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی و کم‌ترین آن (۱۳/۰۵ میکرومول بر گرم وزن تر) در شاهد (آب مقطر) حاصل گردید و این صفت با تشدید شوری افزایش یافت. به‌طوری که بیش‌ترین مقدار پرولین (۱۸/۴۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۱۵/۰۱ میکرومول بر گرم وزن تر) در شاهد (بدون شوری) مشاهده شد ( جدول ۲ و ۳). یکی از سازوکارهای مهم جهت تحمل گیاه به شوری، تجمع اسمولیت‌هایی از قبیل پرولین آزاد و قندهای محلول است (سیددیکوی[3] و همکاران، ۲۰۱۷). بیوسنتز پرولین فرآیندی است که باعث مصرف NADPH که یکی از احیاکنندگان قوی در کلروپلاست است می‌شود و همچنین، میزان گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (تورکان[4]، ۲۰۱۱). گیاه با تجمع پرولین در مقابل تنش ایجاد شده مقاومت نشان داده و موجب بهبود رشد در طول تنش‌های محیطی می‌شود. در این تحقیق، شوری موجب تجمع پرولین شد و استفاده از کیتوزان نیز به‌طور قابل‌توجهی پرولین را در گیاهچه لوبیا تحت تنش شوری افزایش داد. شوری، محتوای پرولین را به علت تحریک یا بیوسنتز پرولین، کاهش در اکسیداسیون آن یا کاهش مصرف آن در سنتز پروتئین‌ها افزایش می‌دهد (خان[5] و همکاران، ۲۰۱۰). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به‌عنوان محافظ در برابر تنش عمل کرده و به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و منجر به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن‌ها در شرایط تنش می‌شود (کوک[6] و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین پرولین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی در گیاهان در نظر گرفته شده و اثرات نامطلوب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (چن و دیکمان[7]، ۲۰۰۵). افزایش پرولین ناشی از تنش شوری احتمالا به دلیل فعال شدن آنزیم‌های مسیر گلوتامات تحت تنش کلرید سدیم و سنتز پرولین باشد، زیرا کلرید سدیم باعث تحریک ژن‌های سنتزکننده این آنزیم‌ها می‌شود (دهقان[8] و همکاران، ۲۰۱۸). براساس نتایج پژوهش مهدوی و صفری (۲۰۱۵) کیتوزان با افزایش پرولین پایداری ساختار سلول را در برابر تنش سبب می‌شود و از این طریق آثار سوء تنش را کاهش می‌دهد. کیتوزان ممکن است

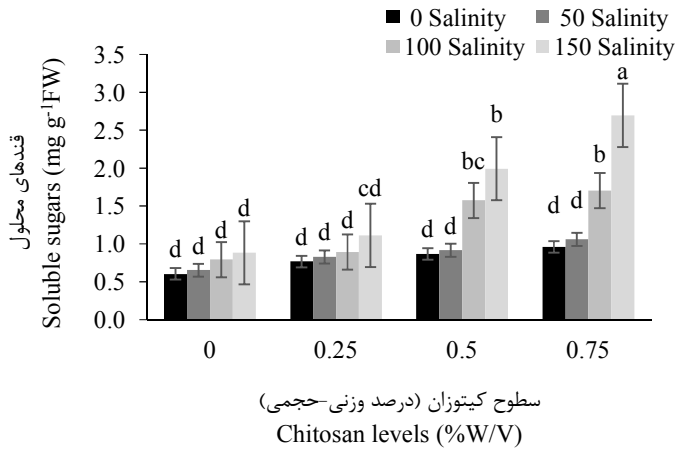
[1] Munns and James
[2] Varier
[3] Siddiqui
[4] Turkan
[5] Khan
[6] Koc
[7] Chen and Dickman
[8] Dehghan

با افزایش پرولین و تنظیم اسمزی سلول در کاهش اثرات سوء تنش شوری روی لوبیا مؤثر واقع شود. مهدوی و صفری (۲۰۱۵) در پژوهش خود نشان دادند که در شرایط بدون تنش، تیمار با غلظت‌های کیتوزان سبب افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد گردید. همچنین، در شرایط تنش شوری، تیمار کیتوزان موجب افزایش میزان پرولین در نخود و سویا شد (منصوری گندمانی[1] و همکاران، ۲۰۱۷) که با نتایج این تحقیق هم مشابهت داشت. نتایج تحقیق دیگر هم نشان داد که کیتوزان باعث افزایش مقدار پرولین شد (بهبود[2] و همکاران، ۲۰۲۰).

**محتوای قندهای محلول:** بیش‌ترین محتوای قندهای محلول (۲/۶۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد و کم‌ترین قندهای محلول (۰/۶۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در شاهد (پرایمینگ با آب مقطر) و بدون شوری حاصل گردید (شکل ۲). در این تحقیق، شوری موجب افزایش میزان قندهای محلول تحت تیمار کیتوزان گردید. علت تجمع قندهای محلول در طول تنش شوری تحت تیمار کیتوزان این است که قندهای نامحلول مانند نشاسته تجزیه شده و قندهای محلول را ایجاد می‌کند تا پتانسیل اسمزی حفظ گردد (کوواسیک[3] و همکاران، ۲۰۰۹). کیتوزان تحت تنش با افزایش قندهای محلول، تنظیم اسمزی و حفظ پتانسیل آب سلول موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری روی گیاهان می‌شود. در طول تنش شوری قندهای محلول به عنوان یک منبع انرژی عمل کرده و با غلبه بر اختلال متابولیسم سلولی موجب حفظ رشد گیاه می‌شوند. بوهنرت[4] و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند کردند که قندها از طریق تنظیم اسمزی، حفظ تورژسانس، پایداری غشاها و پروتئین‌ها از سلول‌های گیاهان در برابر تنش محافظت می‌کند. گزارش‌ها نشان داد که میزان قندهای محلول تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت (مهدوی[5] و همکاران، ۲۰۱۳). با افزایش غلظت کیتوزان، تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلولی مانند تونوپلاست و آنزیم‌های مسیر متابولیسم قندها ایجاد می‌شود و این یک نوع سازوکار تطابقی و سازگار یافته جهت حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تیمار کیتوزان می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که تنش شوری باعث افزایش قندهای محلول در گیاهان مختلف می‌شود (گان و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین، در شرایط تنش شوری، تیمار کیتوزان موجب افزایش میزان پرولین و کربوهیدرات شد (بهبود و همکاران، ۲۰۲۰; منصوری گندمانی و همکاران، ۲۰۱۷) که با نتایج این تحقیق هم مطابقت داشت.

**فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز:** بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۱۳/۴۳ تغییرات جذب بر میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی و کم‌ترین آن (۷/۷۱ تغییرات جذب بر میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در شاهد (آب مقطر) حاصل گردید و این صفت با تشدید شوری افزایش یافت. به‌طوری که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (۱۲/۵۸ تغییرات جذب بر میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در شوری۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن (۸/۷۲ تغییرات جذب بر میکروگرم پروتئین بر دقیقه) در شاهد (بدون شوری) مشاهده شد (جدول ۲ و ۳). آنزیم پلی فنل اکسیداز مونوفنول‌ها را به دی فنول‌ها تبدیل کرده و همچنین اکسیداسیون دی فنول‌ها را به کوئینون‌ها که در پلیمریزاسیون رنگدانه نقش دارند، کاتالیز می‌کند (بروسگیم[6] و همکاران، ۲۰۰۱). افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تنش نشان دهنده قابلیت اکسید شدن و تجزیه مواد سمی مانند ترکیبات فنلی است که بطور عمده طی تنش شوری انباشته می‌شوند.

[1] Mansoori Gandomani
[2] Behboud
[3] Kovacik
[4] Bohnert
[5] Mahdavi
[6] Breusegem




**شکل ۲.** مقایسه میانگین برهمکنش کیتوزان و شوری بر محتوای قندهای محلول در لوبیا چیتی. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

**Figure 2.** Mean comparison for the interaction effect of chitosan (C) and salinity (S) on soluble sugars in common bean. Different letters in each column indicate significant differences at p<0.05.

**جدول ۴.** ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در بذر لوبیا چیتی تحت پرایمینگ و شوری

**Table 4.** Simple correlation coefficients between studied traits in bean seeds under priming and salinity

| | ارزش حداکثر Peak value | ارزش جوانه‌زنی Germination value | درصد نشت الکترولیت Electrolyte leakage | درصد جوانه‌زنی Germination (%) | محتوای پرولین Proline | محتوای قندهای محلول Soluble sugars | فعالیت پلی فنول اکسیداز Polyphenol oxidase |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ارزش حداکثر Peak value | 1 | | | | | | |
| ارزش جوانه‌زنی Germination value | 0.995* | 1 | | | | | |
| درصد نشت الکترولیت Electrolyte Leakage | -0.782* | -0.819* | 1 | | | | |
| درصد جوانه‌زنی Germination (%) | 0.802* | 0.848* | -0.893* | 1 | | | |
| محتوای پرولین Proline | -0.267 ns | -0.266ns | 0.245 ns | -0.202 ns | 1 | | |
| محتوای قندهای محلول Soluble sugars | -0.294 ns | -0.305 ns | 0.341 ns | -0.255 ns | 0.776* | 1 | |
| فعالیت پلی‌فنول اکسیداز Polyphenol oxidase | -0.311 ns | -0.300 ns | 0.239 ns | -0.193 ns | 0.917* | 0.717* | 1 |

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

ns and * indicate not significant and significant at p<0.05, respectively.

انباشتگی انواع ترکیبات فنلی تحت تنش به‌عنوان یک علامت عمل کرده و برای راه‌اندازی زنجیره‌ای از واکنش‌های دیگر که در نتیجه به افزایش تحمل تنش منجر می‌شوند، کمک می‌کند (آندرسون و جوردهیم[1]، ۲۰۰۵). افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز همانند علامت زنده‌ای از تنش در رابطه با رها کردن پراکسیداز از دیواره‌های سلولی است (زنگ[2] و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اثر تنش و متاثر از پرایمینگ با کیتوزان می‌تواند به دلیل سنتز DNA جدید در جنین در

[1] Anderson and Jordheim

[2] Zhang

طول پرایمینگ و در غیاب سلول‌های تقسیم شونده باشد که در پی آن افزایش سرعت بیوسنتز DNA در بافت جنین اتفاق می‌افتد. کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد را خنثی کند و مشخص شده که خاصیت حفاظت کننده از DNA را دارد (هاریش پراشانس[1] و همکاران، ۲۰۰۷). سازوکار خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط کیتوزان ممکن است به ساختار خاص آن مربوط باشد که از شمار زیادی گروه آمین و هیدروکسیل قابل دسترس تشکیل شده که با رادیکال‌های آزاد واکنش نشان می‌دهد (زی[2] و همکاران، ۲۰۰۱). در گیاه لوبیا چیتی تحت تیمار با کیتوزان آنزیم حفاظتی پلی فنل اکسیداز گونه‌های اکسیژن فعال را حذف کرده و باعث توازن همواستاتیک بین تولید و گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود و از این طریق اثرات شوری را کاهش می‌دهد.

**همبستگی بین صفات مورد مطالعه**

در جدول ۴ ضرایب همبستگی ساده بین شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی بذر لوبیا چیتی آورده شده است. نتایج نشان داد که ارزش حداکثر با درصد جوانه‌زنی و ارزش جوانه‌زنی همبستگی مثبت و معنی‌دار (به ترتیب ۹۹ و ۸۰ درصد) داشت، که نشان می‌دهد با افزایش این صفات ارزش حداکثر هم افزایش می‌یابد. ولی ارزش حداکثر با صفات بیوشیمیایی نظیر نشت الکترولیت، میزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم پلی فنول اکسیداز همبستگی منفی و غیر معنی‌داری را نشان داد. ارزش جوانه‌زنی با درصد جوانه‌زنی نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار (۸۴ درصد) را نشان داد، ولی این صفت همراه با درصد جوانه‌زنی با صفات بیوشیمیایی نظیر نشت الکترولیت، میزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم پلی فنول اکسیداز همبستگی منفی و غیر معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشتند. علاوه بر این، همبستگی بین نشت الکترولیت با درصد جوانه‌زنی منفی و معنی‌دار بود، این نتیجه می‌تواند بیانگر این باشد که نشت الکترولیت‌ها باعث تخریب غشاء و در نهایت کاهش درصد جوانه‌زنی می‌شود (عبدالرحمانی[3] و همکاران، ۲۰۱۳). از میان صفات بیوشیمیایی پرولین با قندهای محلول و آنزیم پلی فنول اکسیداز همبستگی مثبت و معنی‌دار را داشت که نشان‌دهنده تاثیر مثبت پرولین بر قندهای محلول و آنزیم پلی فنول اکسیداز است. قندهای محلول نیز با آنزیم پلی فنول اکسیداز همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت، که نشان می‌دهد قندهای محلول با افزایش آنزیم پلی فنول اکسیداز در حذف گونه‌های اکسیژن فعال دخالت دارد.

**نتیجه‌گیری**

این مطالعه نشان می‌دهد که شوری شاخص‌های جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی را کاهش می‌دهد و این می‌تواند به دلیل تنش اکسیداتیو باشد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مانند پلی‌فنول اکسیداز با کم کردن سطح تولید گونه‌های فعال اکسیژن اثرات سوء تنش شوری را کاهش می‌دهند. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تنش شوری شاخص‌های جوانه‌زنی را کاهش و صفات بیوشیمیایی را تا حدودی افزایش داد و اثر سطوح مختلف کیتوزان به‌ویژه کیتوزان ۰/۷۵ درصد نسبت به شاهد این صفات را افزایش داد، اما قندهای محلول در بذرهای پرایم شده با کیتوزان ۷۵ درصد نسبت به تیمار با کیتوزان ۲۵ و ۵۰ درصد پاسخ بهتری به تنش شوری نشان داد. می‌توان گفت که کیتوزان با افزایش محتوی پرولین و قندهای محلول در گیاهچه لوبیا چیتی و در نتیجه تنظیم اسمزی سلول در کاهش اثرات زیان‌بار تنش شوری در لوبیا چیتی موثر است.

[1] Harish Prashanth
[2] Xie
[3] Abdolrahmani

## منابع

Abadeh, M., Sadeghi Bahmani, M., Hasanzadeh Khankahdani, H. and Yektankhodaei, M. 2022. The effect of seed pre-treatments on germination indices and vegetative traits of *Capparis mucronifolia* Boiss in laboratory and greenhouse. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 11(2): 17-31. [In Persian with English Summary]

Abdolrahmani, B., Esfahani, M. and Sadegzadeh, B. 2013. Evaluation of relationship between seed vigor and grain yield in rainfed wheat genotypes. Iranian Journal of Crop Sciences, 14: 308-319. [In Persian with English Summary]

Anderson, O.M. and Jordheim, M. 2005. The Anthocyanins. In: Anderson, O. M., Markham, K. R. (eds.), Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications. CRC Press, London, pp. 471-553. https://doi.org/10.1201/9781420039443.ch10

Arun, M.N., Hebbar, S.S., Senthivel, T., Nair, A.K., Padmavathi, G., Pandey, P. and Singh, A. 2022. Seed Priming: The way forward to mitigate abiotic stress in crops. In: Hasanuzzaman, M., Nahar, K. (eds.), Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture. Intech Open. London, pp.1-30

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Journal Plant and Soil, 39(1): 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Behboud, R., Moradi, A. and Farajee, H. 2020. Effect of different chitosan concentrations on seed germination and some biochemical traits of sweet corn (*Zea mays* var. Saccharata) seedling under osmotic stress conditions. Iranian Journal of Seed Research, 7(1): 1-22. [In Persian with English Summary] https://doi.org/10.29252/yujs.7.1.1

Bohnert, K.H., Nelson, D.E. and Jensen, R.G. 1995. Adaptations to environment stresses. Plant Cell, 7: 1099-1111. https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1099

Breusegem, F.V., Vranová, E. Dat, J.F. and Inzé, D. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science, 161(3): 405-414. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00452-6

Chen, C. and Dickman, M.B. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen Colletotrichum trifolii. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102: 3459-3464. https://doi.org/10.1073/pnas.0407960102

Davodi, A., Sadeghipour, A. and Toohidi Moghadam, H.R. 2018. The response of cowpea to the application of ascorbic acid under drought stress conditions. Journal of Agricultural Research, 10: 263-251. [In Persian with English Summary]

Dehghan, Z., Movahhedi Dehnavi, M., Balouchi, H. and Salihi, A. 2018. Effect of salicylic acid on some physiological characteristics of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) under NaCl stress. Journal of Plant Process and Function, 7(23): 97-110. [In Persian with English Summary]

Gopalakrishnan, T. and Kumar, L. 2020. Modeling and mapping of soil salinity and its impact on paddy lands in Jaffna Peninsula, Sri Lanka. Sustainability, 12: 8317. https://doi.org/10.3390/su12208317

Guan, Y.J., Hu, J., Wang, X.J. and Shao, C.X. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. Journal of Zhejiang University. Science B, 10(6): 427-433. https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373

Harish Prashanth, K.V., Dharmesh, S.M., Jagannatha Rao, K.S. and Tharanathan, R.N. 2007. Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. Carbohydrate Research, 342:190-195. https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.11.010

Hartman, H.T., Kester, D.E., Davis, F. and Geneve, R. 2005. Plant Propagation Principles and Practices. 7th ed. Prentice-Hall. U.S.A.

Isayenkov, S.V. and Maathuis, F.J. 2019. Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. Frontiers in Plant Science, 10: 80. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00080

Karo, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319. https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315

Kaydan, D. and Yagmur, M. 2008. Germination, seedling growth and relative water content of shoot in different seed sizes of triticale under osmotic stress of water and NaCl. African Journal of Biotechnology, 7: 2862-2868.

Khan, M.U., Shirazi, M.A., Khan, S.M. and Mujtaba, E. 2009. Role of proline, K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum*). Pakistan Journal of Botany, 41(2): 633-638.

Koc, E., Islek, C. and Ustun, A.S. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University Journal of Science, 23:1-6.

Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by phenol-sulfuric acid method. In: Hellebust, J. A., Craige J. S. (eds.), Handbook of physiological and biochemical methods. Cambridge University Press, London. pp, 95-97.

Kovacik, J., Gruz, J., Backor, M., Strnad, M. and Repcak, M.J. 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. Plant Cell Reports, 28(1): 135-143. https://doi.org/10.1007/s00299-008-0627-5

Mahdavi, B. and Safari, H. 2015. The effect of chitosan and some physiological characteristics of chickpeas under salinity stress conditions. Journal of Plant Process and Function, 4(12): 117-127. [In Persian with English Summary]

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M. and Sharifi. M. 2013. Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed germination and antioxidant enzymes activity under water stress. Iranian Journal of Biology, 26(3): 352-365. [In Persian with English Summary]

Malerba, M. and Cerana, R. 2016. Chitosan effects on plant systems. Journal of Cell Science & Molecular Biology, 17: 996. https://doi.org/10.3390/ijms17070996

Mansoori Gandomani, V., Omidi, H. and Rezaei Charmahin, M. 2017. Application of chitosan on soybean (*Glycine max* L.) seed germination under salt stress. Iranian Journal of Seed Research, 3(2): 173-177. [In Persian with English Summary] https://doi.org/10.29252/yujs.3.2.171

Munns, R. and James, R.A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Journal of Plant and Soil Science, 253(1): 201-218. https://doi.org/10.1023/A:1024553303144

Patade, V.Y., Bhargava, S. and Suqruasanna. P. 2009. Halopriming imparts tolerance to salt and PEG induced drought stress in sugarcane. Agricultural Ecology and Environment, 134: 24-28. https://doi.org/10.1016/j.agee.2009.07.003

Pitura, K. and Arntfield. S.D. 2019. Characteristics of flavonol glycosides in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats. Food Chemistry, 272: 26-32. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.220

Rajabi Dehnavi, A., Zahedi, M. and Ludwiczak, A. 2021. Effect of salinity on seed germination and seedling development of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) genotypes. Agronomy, 10(859): 2-15. https://doi.org/10.3390/agronomy10060859

Rhaman, M.S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C.C., Murata, Y. and Hasanuzzaman, M. 2021a. Seed priming with phytohormones: An effective approach for the mitigation of abiotic stress. Plants, 10: 37. https://doi.org/10.3390/plants10010037

Rhaman, M.S., Rauf, F., Tania, S., Karim, M., Sagar, A., Robin, A.H.K. and Murata, Y. 2021b. Seed priming and exogenous application of salicylic acid enhance growth and productivity of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) by regulating photosynthetic attributes. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, 9: 759-769. https://doi.org/10.18006/2021.9(6).759.769

Ritchie, S.W., Nguyen, H.T. and Haloday, A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30: 105-111. https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x

Shakeri, F., Rastegar, S. and Hassanzadeh Khankahdani, H. 2022. Assessment of seed germination and morphological characteristics of three Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) cultivars under salinity stress. Environmental Stresses in Crop Sciences, 15(3): 751-763. [In Persian with English Summary].

Siddiqui, M.N., Mostofa, M.G., Akter, M.M., Srivastava, A.K., Sayed, M.A., Hasan, M.S. and Tran, L.S.P. 2017. Impact of salt induced toxicity on growth and yield-potential of local wheat cultivars: Oxidative stress and ion toxicity are among the major determinant of salt-tolerant capacity. Chemosphere, 187: 385-394. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.078

Singh, R. P. 2017. Application of nanomaterials toward development of nano biosensors and their utility in agriculture. In: Prasad, R., Kumar, M., Kumar, V. (eds.), Nanotechnology. Springer Nature, Singapore. pp, 293-303. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4573-8_14

Sohrabiani, S., Moradi, A., Salehi, A. and Balouchi, H. 2018. Enhancement of the physiological and biochemical efficiency of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) with different longevity under salt stress. Journal of Plant Process and Function, 7(1): 1-119. [In Persian with English Summary].

Sourazar, K., Sedghi, M. and Sharifi, R.S. 2021. The effect of hydropriming, osmopriming and hormone priming on germination and physiological characterization of French bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds under cadmium stress. Journal of Seed Research, 11(2): 1-23. [In Persian with English Summary].

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

Turkan, I. 2011. Plant responses to drought and salinity stress, Development in a postGenomic era. Advances in Botanical Research. pp. 593.

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

Xie, W.M., Xu, P X. and Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 11: 1699-1701. https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)00285-2

Yadav, S.P., Bharadwaj, R., Nayak, H., Mahto, R., Singh, R.K. and Prasad, S.K. 2019. Impact of salt stress on growth, productivity and physicochemical properties of plants: A review. International Journal of Chemical Studies, 7: 1793-1798.

Zayed, M. M., Elkafafi, S. H., Zedan, A. M. G. and Dawoud. S. F. M. 2017. Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. Journal of Plant Production, 8(5): 577-585. https://doi.org/10.21608/jpp.2017.40468

Zhang, F., Wang, Y. and Dong, J. 2007. Effect of heavy metal stress on ant oxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of two mangrove plant seedlings. Chemosphere, 67: 44-50. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.10.007

Zhu, Z.H., Sami, A., Xu, Q.Q., Wu, L.L., Zheng, W.Y., Chen, Z.P., Jin, X.Z., Zhang, H., Li, Y. and Yu, Y. 2021. Effects of seed priming treatments on the germination and development of two rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under the co-influence of low temperature and drought. Plos One, 16: e0257236. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257236