اثر پرایمینگ و محلول‌پاشی بتائین گلایسین بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی و مورفوفیزیولوژیک لوبیا رقم درخشان تحت تنش شوری

The effect of priming and glycine betaine spraying on some morph-physiological and germination characteristics of bean var Derakhshan under salinity stress

مونا میرزایی[1*]، فرشاد قوشچی[1] و پیمان عزیزی[1]

۱- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا- ورامین، تهران، ایران

مسوول مکاتبات: Muna.mirzaie2008@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۹/۱۴

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کاربرد بتائین گلایسین بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی و مورفوفیزیولوژیک لوبیا تحت تنش شوری آزمایشی در تابستان سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار سطح (صفر، دو، چهار و شش میلی‌مولار) NaCl و سه سطح بتائین گلایسین (صفر، پنج و ۱۰ppm) در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر تنش شوری بر شاخص جوانه‌زنی، وزن خشک ریشه‌چه، کلروفیل کل، درصد پروتئین برگ، محتوای پرولین برگ، میزان پایداری غشای سلول و محتوای آب نسبی برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر کاربرد بتائین گلایسین بر تمامی صفات مورد بررسی به‌غیر از میزان پایداری غشای سلول معنی‌دار بود. بررسی اثرات متقابل نشان داد که اثر متقابل شوری در محلول‌پاشی بتائین گلایسین بر شاخص جوانه‌زنی، کلروفیل کل، درصد پروتئین برگ و محتوای پرولین برگ معنی‌دار شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که از نظر شوری بهترین تیمار آب خالص (شاهد) بود که باعث بهبود اکثر صفات اندازه‌گیری به‌غیر از وزن خشک ریشه‌چه در گیاه لوبیا قرمز گردید. همچنین کاربرد بتائین گلایسین در شرایط تنش شوری توانست سبب بهبود اثرات منفی ناشی از تنش شوری گردد.

واژگان کلیدی: لوبیا قرمز، بتائین گلایسین، تنش شوری، شاخص جوانه‌زنی.

مقدمه

نمک‌های موجود در خاک برای رشد ضروری است، اما با توجه به‌وجود نمک در آب و تبخیر بالای آن در نواحی خشک و نیمه خشک، تجمع نمک‌ها باعث به‌وجود آمدن پدیده شوری گردید، در خاک‌های شور جلوگیری از جذب آب و عناصر به درون گیاه یکی از محدودیت‌های رشد گیاهان زراعی محسوب می‌گردد (Turan *et al*., 2009). اگرچه تنش شوری در تمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند رخ دهد، اما با توجه به این‌که استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی تاثیر زیادی دارد، تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای برای گیاه می‌تواند بسیار مضر باشد (Rauf *et al*., 2007). یکی از مراحل حساس گیاه به تنش شوری، مرحله جوانه‌زنی است (Kader and jutzi, 2004). تحت تنش شوری، گیاهان سازو کارهای پیچیده‌ای برای سازگار شدن با تنش اسمزی و سمیت یون‌ها به‌کار می‌برند که بسته به نوع گیاه و میزان حساسیت آن‌ها به شوری متفاوت است. مثلا در گیاهان متحمل به شوری یون‌های سدیم و کلسیم در واکوئل و در ارقام حساس در سیتوپلاسم سلول تجمع پیدا می‌کنند (Gholam *et al*., 2002). لوبیا به‌عنوان یکی از منابع تأمین غذای انسان دارای پروتئین در حد بالا، فسفر، آهن، ویتامین B_1 و فیبر بود و فاقد کلسترول است. لوبیا نقش مهمی در جهان دارد (یادگاری و همکاران، ۱۳۸۸).

از جمله سازو کارهای مهم تحمل به شوری، تنظیم اسمزی درون سلول به‌کمک نمک‌های جذب شده از محیط شور، انتقال نمک از برگ‌های جوان به برگ‌های پیر، جلوگیری از تجمع بیش از حد نمک در برگ و دفع از طریق غده‌های نمکی، تغییر مسیر فتوسنتزی از C_3 به C_4 یا CAM است (مهدوی و کافی، ۱۳۸۹). از دیگر ترکیبات نیتروژنی کاهش دهنده تنش‌های محیطی، بتائین گلایسین است که در اغلب واکنش‌های مربوط به تنش‌های محیطی در سلول‌های گیاهی دخیل می‌باشد. تحقیقات گسترده علمی نشان داد که طبیعتاً در سلول‌های گیاهی در واکنش به تنش شوری و خشکی، بتائین گلایسین جهت فرونشاندن خسارت ناشی از تنش‌های فوق الذکر تجمع می‌یابد (بوربور، ۱۳۹۴). یک دسته از مواد آلی سازگار بتائین گلایسین است که در بسیاری از گونه‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی ساخته می‌شود و به‌عنوان یک تعدیل کننده اسمزی در سلول افزایش می‌یابد (میری و همکاران، ۱۳۹۳). پرایمینگ بذر تکنیکی فیزیولوژیکی (Moradi and Yunesi, 2009) است که طی آن آب وارد بذر شده و فعالیت‌های نخستین جوانه‌زنی آغاز می‌شود، اما به‌دلیل پایین بودن میزان آب جذب شده از خروج ریشه‌چه جلوگیری می‌شود، به‌عبارت دیگر در این روش، بذرها مرحله اول (جذب فیزیکی آب) و دوم (شروع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها) جوانه‌زنی را پشت سرگذاشته، اما وارد مرحله سوم (مصرف قند توسط جنین و رشد ریشه‌چه) نمی‌شوند، سپس بذور خشک می‌شوند که به این مرحله هاردنینگ گویند (Moradi Dezfuli *et al*., 2008). امروزه چندین تکنیک به‌صورت تجاری برای انجام پرایمینگ بذر مورد استفاده قرار می‌گیرند، این تکنیک‌ها عبارتند از: هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ، هالوپرایمینگ. در حالی‌که روش‌های مختلفی برای انجام پرایمنگ استفاده شده است، اصول اساسی آن فعال‌شدن مراحل مقدماتی جوانه‌زنی در طی پرایمینگ و جلوگیری از ادامه آن توسط خشک کردن مجدد است، هرچند موفقیت پرایمینگ همیشه ثابت نیست. علت آن می‌تواند ماهیت بیولوژیکی بذرها باشد که در پاسخ به پرایمینگ اختلاف دارند. به‌علاوه بسیاری از تفاوت‌ها در روش‌های پرایمینگ، اثرات متفاوتی روی فیزیولوژی کارآیی بذر دارند (Ashraf and foolad, 2005). افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی، کاهش حساسیت بذور به عوامل محیطی، استقرار سریع‌تر، بنیه بالاتر، توسعه سریع‌تر، گل‌دهی زودتر و عملکرد بالاتر از پیامدهای پرایمینگ بذر است (Demir Kaya *et al*., 2006). هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر پرایمینگ و محلول‌پاشی بتائین گلایسین بر خصوصیات جوانه‌زنی

و مورفوفیزیولوژیک لوبیا قرمز تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عامل اول تنش شوری در چهار سطح: شاهد، دو، چهار و شش میلی‌مولار NaCl و عامل دوم محلول‌پاشی بتائین گلایسین در سه سطح: شاهد، پنج و ۱۰ پی پی ام بودند. ابتدا بذور پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم به‌مدت پنج دقیقه و اتانول ۹۶٪ به‌مدت ۳۰ ثانیه به‌خوبی با آب مقطر شست و ۲۴ ساعت در محلول با غلظت‌های صفر، پنج و ۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین به‌طور جداگانه خیسانده شد. پس از آن بذرهای خیس خورده به پتری دیش‌های استریل حاوی کاغذ صافی انتقال یافت. برای هر تیمار ۱۰۰ عدد بذر ضدعفونی شده در پتری دیش قرارگرفت. برای ایجاد تنش شوری از محلول NaCl با غلظت‌های صفر، دو، چهار و شش میلی‌مولار به‌میزان ۱۰ میلی‌لیتر در هر پتری دیش استفاده شد. سپس درب پتری دیش‌ها بسته و برای جوانه‌زنی در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت شمارش بذور جوانه‌زده تا روز هشتم زمانی که در تعداد بذرهای جوانه‌زده تغییری مشاهده نشد، ادامه یافت. طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه با استفاده از پنج نمونه از هر تکرار با کولیس اندازه‌گیری شد. برای خشک کردن نمونه‌ها اندام‌های فوق ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. برای تیمارهای پرایمینگ با محلول کلرید سدیم با استفاده از محاسبه وزن مولی محلول آماده شد.

NaCl= Na (23)+Cl (35.3)= 58.5
2mmol= 58.5*2/1000= 0.117
4mmol= 58.5*4/1000= 0.234
6mmol= 58.5*6/1000= 0.351

شاخص جوانه‌زنی (GI)

$$GI = (7_{n1} + 6_{n2} + 5_{n3} + 4_{n4} + 3_{n5} + 2_{n6} + 1_{n7}) / 7N$$

n_1 = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز اول
n_2 = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز دوم و... تا
n7 = تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز هفتم
N = تعداد کل بذور در هر پتری

وزن خشک ریشه‌چه

جهت اندازه‌گیری ماده خشک، ریشه‌چه و ساقه‌چه به‌طور جداگانه در آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند.

میزان کلروفیل کل

با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر در مرحله هشت برگی بر مبنای اسپاد اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پرولین برگ

۰/۵ گرم از برگ را در داخل پنج میلی‌لیتر اتانول ۰/۹۵ له شده قرار داده شد. قسمت بالای محلول جداگردید و رسوبات آن دوباره با اتانول ۷۰٪ شستشو داده شد و سمت رویی آنها به قسمت رویی قبلی اضافه گردید محلول به‌دست آمده در ۳۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. قسمت بالای محلول جمع‌آوری و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا تعیین پرولین آزاد نگهداری شد. یک میلی‌لیتر از عصاره را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و پس از برهم زدن ۵۰ میلی‌لیتر، معرف نین هیدرین (۱۲۵ میلی‌گرم نین هیدرین + دو میلی‌گرم اسید فسفریک شش مولار + سه میلی‌لیتر اسید استیک گلایسال) و پنج میلی‌لیتر اسید استیک گلایسال به آن اضافه شد. مخلوط حاصل را پس از برهم زدن به‌مدت ۴۵ دقیقه روی حمام جوش (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) گرم گردید و پس از خنک شدن، روی آن ۱۵ - ۵ میلی‌لیتر بنزن اضافه گردید و به‌شدت تکان داده شد. بعد از ۲۵ تا ۳۰ دقیقه نمونه‌ها به حالت ساکن نگهداری شد. شدت جذب با اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰/۴- ۰ میکروگرم پرولین بر گرم تهیه گردید (Irigoyen *et al*., 1993).

اندازه‌گیری میزان پایداری غشای سیتوپلاسمی

جهت ارزیابی میزان پایداری غشای سیتوپلاسمی، یک برگ میانی از هر گلدان انتخاب و بلافاصله در داخل ظرف درپوش‌دار حاوی ۱۵ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده قرار داد و به‌مدت ۲۰ ساعت در دمای اتاق قرارگرفت و بعد میزان یون‌های تراوش شده به‌وسیله تعیین هدایت الکتریکی محاسبه گردید (Andrade *et al*., 2002).

اندازه‌گیری میزان محتوی آب نسبیRWC

جهت محاسبه محتوی آب نسبی (RWC)، سه برگ انتهایی در مرحله هشت برگی از هر گلدان انتخاب و داخل کیسه پلاستیکی قرارگرفت. ابتدا وزن اولیه برگ‌ها اندازه‌گیری و بعد در داخل ظرف حاوی آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرارگرفت. سپس برگ‌ها را بیرون آورده و با کاغذ صافی خشک کرده و وزن آماس یافته تعیین و سپس وزن خشک اندازه‌گیری گردید (Gupta and Kaur, 2005).

۱۰۰×وزن خشک برگ – وزن اشباع برگ/ وزن خشک برگ- وزن تازه برگ = محتوای رطوبت نسبی

در پایان آزمایش نتایج هر کدام از تیمارها توسط برنامه نرم‌افزاری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌های هر صفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص جوانه‌زنی

مقایسه میانگین اثر متقابل بتائین گلایسین و شوری بر شاخص جوانه‌زنی گیاه لوبیا قرمز، بیانگر آن است که بیش‌ترین میزان تأثیر بر شاخص جوانه‌زنی گیاه لوبیا قرمز با۳/۶۰ درصد در تیمار شاهد ×۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین که با تیمار شاهد ×پنج میلی‌مولار بتائین گلایسین اختلاف معنی‌داری نداشت و کم‌ترین میزان تأثیر با ۲/۹۱ درصد در تیمار شش میلی‌مولار NaCl ×شاهد به‌دست آمد. همان‌طور که در اثرات متقابل مشاهده می‌شود بتائین گلایسین تاثیری بر تنش شوری نداشت و اختلاف بین بالاترین و پایین‌ترین شاخص جوانه‌زنی به‌دلیل غلظت NaCl می‌باشد (جدول دو). که با نتایج به‌دست آمده مطابقت دارد. قاسمی گلعذانی و همکاران (Ghassemi- Golezani *et al*., 2010) گزارش نمودند تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه بر خلاف سایر مراحل رشد باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌گردد، که این امر به‌واسطه کاهش انتقال مواد فتوسنتزی در مرحله پر شدن دانه بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات سطوح تنش شوری و بتائین گلایسین روی لوبیا

Table 1. Analysis of variance effects of salinity stress levels and glycine betaine spraying on bean

S.O.V	منبع تغییرات	میانگین مربعات M.S							
		درجه آزادی df	شاخص جوانه‌زنی G.index	وزن خشک ریشه‌چه W.D.R	کلروفیل کل Total Chlorophyll	پرولین برگ Proline	پایداری غشای سلولی Ec	پروتئین protein	محتوای نسبی آب برگ (RWC)
Rep	تکرار	2	0.027	0.00087	0.061	0.117	0.136	0.359	13.44
Salinity	تنش شوری	3	0.537**	0.000274 **	4.89**	172.903**	1.08**	1.191**	466.74**
Glycine betaine	بتائین گلایسین	2	0.052**	0.000222 **	1.624**	60.603**	0.229 ns	2.336 **	242.861 **
B×S	تنش شوری × بتائین‌گلایسین	6	0.016*	0.000055 ns	0.572**	4.510**	0.81 ns	0.334 **	45.93 ns
Error	خطا	16	0.005	0.000041	0.086	0.343	0.108	0.154	24.29
C.V (%)	ضریب تغییرات	-	2.13	3.64	7.48	3.76	11.77	9.62	7.06

ns عدم تفاوت معنی‌دار و * در سطح پنج و ** در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

ns no significant difference in levels * and 5% and ** is significant at 1% level.

کلروفیل کل

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول یک) سطوح مختلف تنش شوری و سطوح بتائین گلایسین و اثرات متقابل بتائین گلایسین و تنش شوری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری بر میزان کلروفیل کل داشت. نتایج نشان داد که تنش اعمال شده در سطح جداگانه قرارگرفت (جدول یک) و بیش‌ترین کلروفیل کل مربوط به تیمار شاهد (صفر میلی‌مولار) NaCl با Spad ۴/۸۸ و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به شش میلی‌مولار NaCl با Spad ۱/۱۸ مشاهده گردید. جدول دو مقایسه میانگین اثرات ساده بتائین گلایسین نشان داد که بیش‌ترین کلروفیل کل با کاربرد ۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین با Spad ۴/۲۵ و کم‌ترین در شرایط شاهد با Spad ۳/۵۲ به‌دست آمد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل بتائین گلایسین و شوری بر کلروفیل کل گیاه لوبیا قرمز، بیانگر آن است که بیش‌ترین میزان تأثیر بر کلروفیل کل گیاه لوبیا قرمز (Spad ۵/۸۰) در تیمار چهار میلی‌مولار NaCl×10 ppm بتائین گلایسین و کم‌ترین میزان تأثیر(Spad ۲/۹۳) در تیمار شش میلی‌مولار× NaCl شاهد به‌دست آمد. تحت شرایط نامساعد محیطی سطوح درونزای فیتوهورمون‌ها دچار تغییرات اساسی می‌شود. کاهش مقادیر سیتوکنین‌ها و اسید جیبرلیک و افزایش محتوای اسید آبسزیک در گونه‌های گیاهی متعددی تحت تنش‌های شوری و خشکی گزارش گردید (Sivritepe *et al*., 2003). بررسی‌های مختلف نشان دادکه ساخت کلروفیل در کمبودهای شدید آب متوقف می‌شود. با افزایش مقدار تنش آب یا کاهش پتانسیل آب خاک، روند تخریب رنگیزه‌های کلروفیل با سرعت بیش‌تری صورت می‌گیرد. همچنین در شرایط فوق کلروفیل a، b و کل روند نزولی داشت و کاروتن‌ها تا حدودی روند صعودی و بعد کاهش یافت. خشکی باعث پیری زودرس در گیاهان، شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد و در کل باعث ناپایداری در کمپلکس پروتئین-کلروفیل و لیپیدها می‌شود (خلدبرین و اسلام‌زاده، ۱۳۸۰). اثر هیدروپرایمینگ بذور لوبیا بر تراکم و بیوماس گیاه معنی‌دار بود ولی هیدروپرایمینگ بر میزان کلروفیل، تأثیر معنی‌داری نداشت (Ghasemi *et al*., 2010). محققان دریافتند که شوری غلظت کلروفیل را کاهش می‌دهد که در ارقام مقاوم‌تر، کلروفیل کم‌تر تجزیه می‌گردد (Kummer *et al*., 2003).

پرولین برگ

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول یک) اثر ساده سطوح مختلف تنش شوری، اثر ساده سطوح بتائین گلایسین و اثر متقابل بتائین گلایسین و تنش شوری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری بر میزان پرولین داشت. بیش‌ترین میزان پرولین از تیمار شش میلی‌مولار NaCl به‌میزان ۲۱/۵۳ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به شاهد (صفر میلی‌مولار NaCl) به‌میزان ۱۱/۳۱ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ مشاهده گردید. مقایسه میانگین بتائین گلایسین نشان داد که بیش‌ترین پرولین در تیمار شاهد به‌میزان ۱۸/۸ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ حاصل شد که بیانگر تنش شدید بود و کم‌ترین در شرایط ۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین به‌میزان ۱۳/۸۲ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ به‌دست آمد. اثر متقابل تنش شوری و بتائین گلایسین (جدول شش) نشان داد بیش‌ترین پرولین برگ به‌میزان ۲۳/۴۴ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ در تیمار شش میلی‌مولار NaCl × شاهد و کم‌ترین میزان پرولین برگ ۹/۱۹ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ مربوط به کاربرد شاهد × پنج پی پی ام بتائین گلایسین به‌دست آمد. در گیاهان مقاوم به شوری تا ۳۰۰ برابر ظرفیت سلول، پرولین تجمع می‌یابد. تجمع پرولین سبب می‌شود که آسیب به غشاها کم شود، زیرا به‌طور مستقیم رادیکال‌های هیدروکسیل را از سلول جمع‌آوری می‌کند. همچنین در مسیر تولید پرولین نسبت $NADP^+$ به NADPH تعدیل می‌شود. تعدیل این نسبت سبب می‌شود که زنجیره انتقال الکترون فعال مانده به‌جای انتقال الکترون‌ها بر روی اکسیژن و تولید انواع رادیکال‌های آزاد، آن‌ها را به روی $NADP^+$ ذخیره کند (Vendruscolo *et al*., 2007؛ Salmerón-Miranda, 2008).

پرولین اسید آمینه آزادی است که به‌عنوان یک ماده محلول به‌طور طبیعی در پاسخ به تنش‌ها در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد، تنش شوری موجب افزایش میزان پرولین می‌گردد. معمولاً گیاهانی که در معرض تنش شوری یا خشکی قرار می‌گیرند، پرولین تجمع پیدا می‌کند. پرولین در گیاه تحت تنش شوری هم به‌عنوان ذخیره نیتروژن و یک تنظیم کننده فشار اسمزی عمل می‌کند که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد.

درصد پروتئین

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول یک) اثر ساده سطوح مختلف تنش شوری، اثر ساده سطوح محلول‌پاشی بتائین گلایسین و اثر متقابل محلول‌پاشی بتائین گلایسین و تنش شوری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری را از نظر میزان پروتئین برگ نشان داد. نتایج نشان داد که تنش اعمال شده در سطح جداگانه قرارگرفت (جدول دو) و بیش‌ترین پروتئین دانه مربوط به تیمار شاهد (صفر میلی‌مولار NaCl) به‌میزان ۴/۳۳ درصد که با تیمار دو و چهار میلی‌مولار اختلاف معنی‌دار نداشت و کم‌ترین مقدار نیز از تیمار شش میلی‌مولار NaCl به‌میزان ۳/۵۵ درصد مشاهده گردید. اثر ساده بتائین گلایسین نشان داد که بیش‌ترین درصد پروتئین با ۴/۵۴ درصد مربوط به تیمار ۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین و کم‌ترین درصد با ۳/۶۷ درصد مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج اثرات متقابل نشان داد که بیش‌ترین درصد پروتیئن با ۴/۷۱ درصد مربوط به تیمار شاهد ×۱۰ پی پی ام محلول‌پاشی بتائین گلایسین و کم‌ترین با ۲/۶۸ درصد مربوط به تیمار شش میلی‌مولارNaCl × شاهد بود (جدول دو). برگ‌ها و ساقه نیز اغلب کم‌تر از ۵۰ درصد نیتروژن دانه را فراهم می‌سازند، این نیتروژن عموماً از هیدرولیز پروتئین‌های برگ ناشی شد و بعد از گرده‌افشانی، نیتروژن کمی از ساقه به دانه منتقل گردید (Parasher and Varma, 2013). بنابراین قسمت عمده کربن و نیتروژن انتقال یافته به دانه‌های در حال رشد از طریق فتوسنتز و احیای نیتروژن جاری تأمین می‌شود. کمبود آب در مرحله پر شدن دانه این وضعیت را تغییر می‌دهد، به‌طوری که فتوسنتز و احیای نیتروژن جاری در پتانسیل آب برگ پایین بازداشته شد و رشد دانه وابستگی بیش‌تری به انتقال مجدد ذخایر کربن و نیتروژن پیدا نمود. هر عاملی که سبب کاهش عملکرد دانه شود به‌طور مستقیم سبب کاهش عملکرد پروتئین دانه نیز خواهد شد. زیرا با اعمال تنش خشکی، فتوسنتز کاهش یافته و مواد کم‌تری از منبع (برگ‌ها) به مقصد (دانه‌ها) انتقال می‌یابند که با کاهش عملکرد دانه، عملکرد پروتئین دانه نیز کاهش می‌یابد که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Maggio *et al*., 2010).

وزن خشک ریشه‌چه

جدول تجزیه واریانس (جدول یک) نشان داد که اثر ساده تنش شوری و اثر سطوح بتائین گلایسین بر صفت وزن خشک ریشه‌چه لوبیا قرمز در سطح یک درصد معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل بتائین گلایسین و شوری بر وزن خشک ریشه‌چه معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف شوری بیانگر این موضوع است که میزان شوری بر وزن خشک ریشه‌چه تأثیر داشت، به‌طوری‌که بیش‌ترین مقدار با ۰/۰۱۱۲ گرم مربوط به غلظت صفر میلی‌مولار NaCl (شاهد) و کم‌ترین مقدار با ۰/۰۰۰۵ گرم مربوط به غلظت شش میلی‌مولار NaCl بود. مقایسه میانگین اثر بتائین گلایسین نشان داد که بیش‌ترین مقدار با ۰/۰۰۶۴ گرم مربوط به غلظت ۱۰ پی پی ام و کم‌ترین مقدار با ۰/۰۰۳۲ گرم مربوط به تیمار شاهد بود که با تیمار غلظت پنج پی پی ام اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول سه). همان‌طور که مشاهده شد اعمال تنش شوری با توجه به افزایش غلظت NaCl، موجب کاهش وزن خشک ریشه‌چه گردید، در شرایط بروز تنش شوری حداکثری (شش میلی‌مولار NaCl)، کم‌ترین میزان وزن خشک ریشه‌چه حاصل شد، زمانی‌کهNaCl، از طریق پمپ وارد سیستم ریشه‌ای گیاه شد، مانع از جذب مناسب آب گردید در نتیجه می‌توان بیان داشت که اعمال شوری در ابتدای مرحله رشد گیاهچه‌ای اثرات مهمی بر کاهش وزن خشک ریشه‌چه دارد. در مطالعه

برخی از حبوبات مثل نخود مشاهده شد که از مهم‌ترین دلایل کاهش طول و وزن خشک ریشه‌چه تأخیر در انتقال پروتئین از لپه عنوان شد (Bibi *et al*., 2009). در این ارتباط نتایج مربوط به استفاده از عصاره‌های آبی متانول و اتانول نشان داد که استفاده از این تیمارهای الکلی منجر به کاهش خصوصیات جوانه‌زنی از قبیل درصد جوانه‌زنی، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه شد (Pahlevani *et al*., 2008).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح تنش شوری و بتائین گلایسین روی صفات

Table 2. Compares the Average interaction of salinity and glycine betaine on characteristics

Treatment	تیمار	شاخص جوانه زنی Germination index (%)	کلروفیل کل Total chorophyll (SPAD)	پرولین برگ Leaf proline (µmol.Fw)	درصد پروتئین Percent protein (%)
Control × Control (S_1 B_1)	شاهد × شاهد	3.53 ^{ab}	4.06 ^{c}	13.66 ^{de}	4.28 ^{abc}
Control × 5 ppm B.G(S_1 B_2)	شاهد ×۵ ppm بتائین گلایسین	3.57 ^{a}	3.53 ^{cd}	9.19 ^{g}	4.05 ^{b}
Control × 10 ppm B.G(S_1 B_3)	شاهد ×۱۰ ppm بتائین گلایسین	3.60 ^{a}	3.32 ^{de}	11.09 ^{f}	4.71 ^{a}
2 m mol Na Cl× Control(S_2 B_1)	۲ میلی مولار NaCl × شاهد	3.53 ^{ab}	3.17 ^{de}	16.07 ^{d}	3.94 ^{bc}
2 m mol Na Cl× 5 ppm B.G(S_2 B_2)	۲ میلی مولار NaCl ×۵ ppm بتائین گلایسین	3.33 ^{ab}	4.78 ^{b}	13.46 ^{de}	4.44 ^{ab}
2 m mol Na Cl ×10 ppm B.G(S_2 B_3)	۲ میلی مولار NaCl ×۱۰ ppmبتائین گلایسین	3.31 ^{b}	4.10 ^{bc}	11.21 ^{f}	4.63 ^{ab}
2 m mol Na Cl × Control(S_3 B_1)	۴ میلی مولار NaCl × شاهد	3.34 ^{ab}	3.56 ^{sd}	19.16 ^{c}	3.78 ^{cd}
4 m mol Na Cl ×5 ppm B.G(S_3 B_2)	۴ میلی مولار NaCl ×۵ ppm بتائین گلایسین	3.24 ^{bc}	3.45 ^{d}	13.41 ^{e}	3.83 ^{cd}
4 m mol Na Cl× 10 ppm B.G(S_3 B_3)	۴ میلی مولار NaCl ×۱۰ ppm بتائین گلایسین	3.25 ^{bc}	5.80 ^{a}	14.61 ^{de}	4.58 ^{ab}
6 m mol Na Cl× Control(S_4 B_1)	۶ میلی مولار NaCl × شاهد	2.91 ^{d}	2.93 ^{e}	23.44 ^{a}	2.68 ^{e}
6 m mol Na Cl ×5 ppm B.G(S_4 B_2)	۶میلی مولار NaCl ×۵ ppm بتائین گلایسین	2.98 ^{cd}	3.73 ^{cd}	21.70 ^{b}	3.71 ^{cde}
6 m mol Na Cl× 10 ppm B.G(S_4 B_3)	۶ میلی مولار NaCl ×۱۰ ppmبتائین گلایسین	3.12 ^{c}	4.53 ^{bc}	19.22 ^{c}	4.26 ^{b}

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Average that at least one letters in common, a significant difference in Duncan's multiple range test have five percent.

محتوای نسبی آب RWC

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده سطوح مختلف تنش شوری و اثر ساده بتائین گلایسین از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری بر محتوای آب نسبی داشت. اثر متقابل بتائین گلایسین و تنش شوری اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول یک). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنش اعمال شده در سطح جداگانه قرارگرفت و بیش‌ترین محتوای آب نسبی مربوط به تیمار شاهد (صفر میلی‌مولار NaCl) به‌میزان ۷۸/۲۲ درصد و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به شش میلی‌مولار NaCl به‌میزان ۶۱/۴۴ درصد مشاهده گردید. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تأثیر بتائین گلایسین در بروز این صفت، بیش‌ترین محتوای آب نسبی با کاربرد ۱۰ پی پی ام بتائین گلایسین به‌میزان ۷۴/۵۸ درصد و کم‌ترین در شرایط آب خالص به‌میزان ۶۵/۶۶ درصد

حاصل شد (جدول سه). محتوای نسبی آب به‌عنوان معیاری قابل اعتماد برای اندازه‌گیری وضعیت آب در بافت‌های گیاهی محسوب می‌شود و از این نظر نسبت به پتانسیل آب سلول برتری دارد، زیرا محتوای آب نسبی برگ از طریق ارتباط مستقیم با حجم سلول می‌تواند تعادل بین آب گیاه و سرعت تعرق را بهتر نشان دهد. بین سلولی و میزان آب در پیکره خود را از طریق افزایش مواد اسمزی در درون بافت‌ها به حداقل می‌رسانند تا آب از بافت خاک با نیروی بیش‌تری وارد آن‌ها شود که این امر موجب کاهش میزان آب نسبی در شرایط تنش خشکی می‌گردد (Sinclair *et al*., 2003). اثر بتائین گلایسین در افزایش رشد و کاهش اثرات تنش شوری در این آزمایش موجب شد که محتوای آب نسبی برگ‌ها به‌طور قابل توجهی افزایش یابد، که با نتایج به‌دست آمده مطابقت دارد. گیاهان برای مقابله با اثرات مضر نمک، املاح سازگار مانند پرولین، ساکاروز، پولیول، ترهالوز و ترکیبات آمونیومی چهارگانه مانند گلایسین بتائین، آلانین- بتائین، پرولین بتائین، هیدروکسی پرولین بتائین و پی‌پکولیت بتائین را به‌منظور تنظیم اسمزی در سلول تجمیع می‌کنند با توجه به این‌که همه گیاهان گلایسین بتائین را به‌میزان کافی برای دفع اثرات سوء تنش‌های غیرزنده تجمع نمی‌دهند، روش دیگری برای افزایش غلظت این ترکیب در گیاهان برای افزایش تحمل به تنش در نظر گرفته شد، استعمال خارجی این تنظیم کننده‌ها به گیاهان تحت تنش به صورت تیمار بذر و یا پاشش برگی به‌منظور افزایش تحمل می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2007).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح تنش شوری و بتائین گلایسین روی صفات

Table 3. Compares the Average effects of salinity and glycine betaine on characteristics

Treatment		تیمار	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight (g)	ضریب جوانه‌زنی The coefficient of germination	محتوای نسبی آب برگ RWC (٪)
Salinity		تنش شوری			
Control	S_1	شاهد	0.0112 [a]	22.42 [a]	78.22 [a]
2 m mol Na Cl	S_2	۲ میلی‌مولار NaCl	0.0053 [b]	22.18 [ab]	72.44 [b]
4 m mol Na Cl	S_3	۴ میلی‌مولار NaCl	0.0013 [c]	22.24 [ab]	67.00 [c]
6 m mol Na Cl	S_4	۶ میلی‌مولار NaCl	0.005 [c]	21.92 [b]	61.44 [d]
Glycine betaine		بتائین گلایسین			
Control	B_1	شاهد	0.0032 [b]	22.30 [a]	65.66 [b]
5 ppm B.G	B_2	۵ ppm بتائین گلایسین	0.0041 [b]	22.26 [ab]	69.08 [b]
10 ppm B.G	B_3	۱۰ ppm بتائین گلایسین	0.0064 [a]	22.01 [b]	74.58 [a]

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Average that at least one letters in common, a significant difference in Duncan's multiple range test have five percent.

میزان پایداری غشای برگ

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد سطوح مختلف تنش شوری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری بر میزان پایداری غشای برگ داشت. اثر ساده سطوح بتائین گلایسین و اثر متقابل تنش شوری و بتائین گلایسین اختلاف معنی‌داری بر پایداری غشای برگ نداشت (جدول یک). نتایج جدول چهار نشان داد که تنش اعمال شده در سطح جداگانه قرارگرفت و بیش‌ترین میزان پایداری غشای برگ مربوط به تیمار شش میلی‌مولار NaCl به‌میزان ۳/۲۹ (ds/m) که در گروه آماری(a) قرار گرفت و کم‌ترین مقدار نیز مربوط به تیمار شاهد

(صفر میلی‌مولار NaCl) به‌میزان ۲/۵۵ (ds/m) مشاهده گردید. سازوکار جذبی که بین یون‌های مشابه، نظیر سدیم و پتاسیم تمایز قائل می‌شود، می‌تواند یک شاخص انتخاب مفید برای گزینش ارقام متحمل در برنامه‌های اصلاحی به‌منظور بهبود و جذب مؤثر عناصرغذایی باشد (Khan *et al*., 2009)، تنش شوری سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که نشت از غشاهای سلولی را به‌دنبال خواهد داشت (Summart *et al*., 2010).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثرات سطوح تنش شوری و بتائین گلایسین روی میزان پایداری غشای سلولی

Table 4. Analysis of variance effects on the stability of the membrane glycine betaine salinity and leaves

Treatment		تیمار	پایداری غشای سلولی Cell membrane stability
Salinity		تنش شوری	
Control	S_1	شاهد	2.55 [b]
2 m mol Na Cl	S_2	۲ میلی‌مولارNaCl	2.58 [b]
4 m mol Na Cl	S_3	۴ میلی‌مولارNaCl	2.73 [b]
6 m mol Na Cl	S_4	۶ میلی‌مولار NaCl	3.29 [c]

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترکند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Average that at least one letter in common, a significant difference in Duncan's multiple range test have five percent

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که از نظر شوری بهترین تیمار آب خالص (شاهد) بود که باعث بهبود اکثر صفات اندازه‌گیری به غیر از وزن خشک ریشه‌چه در گیاه لوبیا قرمز گردید. همچنین کاربرد بتائین گلایسین در شرایط تنش شوری توانست سبب بهبود اثرات منفی ناشی از تنش شوری گردد.

منابع

Reverences

ترابی، جفرودی، آ.، فیاض مقدم، آ.، حسن‌زاده قدرت، ع. ۱۳۸۴. بررسی اثرات آرایش کاشت و تراکم بوته بر عملکرد اجزای عملکرد و برخی خصوصیات رویشی در ارقام لوبیا قرمز، مجله علوم کشاورزی، جلد ۳۶. شماره ۳. صفحه ۶۳۹.

رازقی یدک، ف.، توکل افشاری، ر.، شریف‌زاده، ف. ۱۳۸۹. اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های اسید و آلکالین فسفاتاز محور جنینی در مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر دو رقم گندم نان. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. دوره ۴۱. (۲): ۴۱۱-۴۰۳.

میری، ح.ر.، ضمانی مقدم، ع. ۱۳۹۳. کاربرد خارجی بتائین گلایسین به‌منظور کاهش اثرات تنش خشکی در ذرت (*Zea mays* L.)، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران جلد ۱۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ص ۷۱۷-۷۰۴.

Ahmadi, A., Mardeh, A.S., Poustini, K., and Esmailpour. 2007. Germination and seedling Growth in Wheat (*Triticum aestivum* L.). Cultivars under Different Moisture and Temperature Conditioning Pakistan Journal of biological Sciences. 10(22):4043-4049.

Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2005. Pre- sowing seed treatment- A shot–gum approach to improve germination, plant growth and croppy yield under saline and non- salinc condition. Advances in Agronomy 88: 223-271.

Bibi, N., Hameed, A., Ali, H., Iqbal, N., Haq, M.A., Atta, B.M., Shah, T.M., and Alam, S.S. 2009. Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpea genotypes. Pak. J. Bot., 41(2): 731-736.

Atta, M.A., Shah, B.M., Alam, T.M. 2009. Water stress induced variations in protein profiles of germinating cotyledons from seedlings of chickpeas genotypes. Pakistan Journal of Botany. 41, 731-736.

Basra, A.S., Farooq, M., Afzal, I., and Hussain, M. 2006. Influence of osmo priming on the germination and early seedling growth of coarse and fine rice. Int.

Bennett, M.A., and Waters, L.J.R. 1998. Seed hydration treatments for improved sweet corn germination and stand establishment Journal of the American Society for Horticultural Science, 112: 45- 49.

Bittencourt, M.L.C., Dias, D.C.F.S., Dias, L.A.S., and Araujo, E.F. 2005. Germination and vigour of primed asparagus seeds. Sci.Agric (Priacicaba, Braz.) .62(4): 319- 324.

Demir Kaya, M., Okcu, G., Atak, M., Cikili, Y., and Kolsarici, O. 2006. Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthusannuus* L.). Eur. J. Agronomy. 24, 291- 295.

Farooq, M., Basra, S.M.A., Tabssum, R., and Afzal, I. 2006. Enhancing the performance of direct seeded fine rice by seed priming .Plant prod. Sci. 9: 446- 456.

Finch Savage, W.E., Dent, K.C., and Clark, L.J. 2004. Soak condition and temperature following influence the response of maize (*Zea maize* L.) seed to on – farm priming (pre – sowing seed soak). Field Crops Research. 90:361-374.

Ghanbari, A., Lee, H.C. 2011. Response of Sesame (*Sesamum indicum*) Cultivars to Hydropriming of Seeds. Environ. Biol. Sci., 1(12) 638- 642.

Ghassemi- Golezani, K., Chadordooz-Jeddi, A., Nasrollahzade, S., Moghaddam, M. 2010. Effects of Hydro-priming Duration on Seedling Vigor and Grain Yield of Pinto Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 38 (1): 109- 113.

Ghassemi, G., and Esmaeilpour, B. 2008. The effect of salt priming on the performance of differentially matures cucumber (*Cucumis sativus* L) seeds. Journal of Notulae Botanicae Horti Agro botanic Clui-Napoca, 36: 67- 70.

Harris, D., Tripathi, R.S., and Joshi, A. 2000. On- farm priming to improve crop establishment and yield in direct- seeded rice in IRRI: international rice on Dry- seeded Rice Technology' held in Bankok. The international Rice Research institute, Manila, The Philippines., 164.

Harris, D., Tripathi, R.S., and Joshi, A. 2000. On- farm priming to improve crop establishment and yield in direct- seeded rice in IRRI: international rice on Dry- seeded Rice Technology' held in Bankok. The international Rice Research institute, Manila, The Philippines., 164.

Khan, H.A., Ayub, C.M., Pervez, M.A., Bilal, R.M., Shahid, M.A., and Ziaf, K. 2009. Effect of seed priming with NaCl on salinity tolerance of hot pepper. Journal of soil and Environment, 8: 265- 280.

Kummar, S.G., Matta Reddy, A., Sudhakar, C. 2003. NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genitypes of mulberry with contrasting salt tolerance. plant science, 165: 1245 – 1251.

Maggio, A., Barbieri, G., Raimondi, G., and Depascale, S. 2010. Contrasting Effects of GA3 Treatments on Tomato Plants Exposed to Increasing Salinity. J Plant Growth Regul 29:63–72

Moradi, A., and Yunesi, O. 2009. Of osmo- and Hydro- priming on see parameters of Grain Sorghum (*Sorghom bicolor* L.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3(3): 1696- 1700

Moradi Dezfuli, P., Sharif- zadeh, F., and Janmohammadi, M. 2008. Influence, priming techniques on seed germination behavior of Maize inbred lines (*Zea may* L.) ARPN Journal of Agriculture and Biological science. Vol. 3, No, May 2008.

Parasher, A., and Varma S.K. 2013. Effect of pre-sowing seed soakingin gibberellic acid on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different saline conditions. Ind. J. Biol. Sci. 26: 473–475

Salmerón-Miranda, F. 2008. Nitrogen Use in a Maize- Bean rotation in Nicaragua. Effects of organic and mineral fertilizers. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Nicaragua.

Sinclar, T.R., Farias, J.R., Neumaier, N. Nepomuceno, A.L. 2003. Modeling nitrogen accumulation and use by Corn. Field Crops Res.81: 149-15.

Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., and Erise, A. 2003. The Effects of Nacl Priminn on salt tolerance in Melon seedlings grown under saline conditions. Scientia Hort., 97: 299-237.

Subedi, K.D., and Ma, B.L. 2005. Seed priming does not improve corn Yield in a humid temperate environment. Agronomy Journal. 97: 211-218.

Toselli, N.E., and Casenave, E.C. 2003. Water content and the effectiveness' of hydro and osmotic priming of cotton seeds. Seed sci & Technol. 31: 727- 735.

Turan, M.A., Elkiram, A.H.A., and Taban, S. 2009. effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentration in maize plant. Afr. J. Agric. Res. 4(9): 893-897.