

اثر هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ و هورمون پرایمینگ بر جوانه‌زنی و فیزیولوژی بذر لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris*) تحت تنش کادمیوم

خدیجه صور آذر^{۱*}، محمد صدقی^۲، رئوف سیدشریفی^۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم و تکنولوژی بذر، 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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۰

چکیده

به منظور بررسی اثر انواع روش‌های پرایمینگ بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهچه لوبیا قرمز تحت تنش کلرید کادمیوم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل سه سطح کلرید کادمیوم (صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار سطح پرایمینگ (شاهد (عدم پرایمینگ)، آب مقطر، مانتول و اسیدسالیسیلیک هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به مدت ۱۲ ساعت بودند. نتایج آزمایش نشان داد که پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک موجب افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی به میزان ۳ تا ۶۱ درصد تحت تنش ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم در مقایسه با تیمار شاهد شد. همچنین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و کلرید کادمیوم ۱۰۰ سبب افزایش بنیه طولی و وزنی بذر لوبیا قرمز به میزان ۴۲ تا ۱۶۰ درصد، وزن خشک ساقچه‌چه و ریشه‌چه به میزان ۳۰ تا ۴۰۰ درصد در مقایسه با تیمار شاهد شد. بنابراین پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک بهترین روش برای افزایش و بهبود رشد لوبیا قرمز در شرایط عدم تنش و تنش کلرید کادمیوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اسیدسالیسیلیک، بنیه بذر، جوانه‌زنی، کلرید کادمیوم

مقدمه

حبوبات از جمله لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) به دلیل ارزش غذایی بالا (سرشار از پروتئین، مواد معدنی و فیبر) از مهم‌ترین محصولات کشاورزی است که مورد تغذیه انسان قرار دارد (Smith et al., 2019). با توجه به این‌که بیشترین سطح زیر کشت و تولید در جهان در بین حبوبات به لوبیا تعلق دارد، لازم است در زمان جوانه‌زنی و استقرار آن از تنش‌های محیطی دور باشد تا موجب کاهش عملکرد لوبیا نگردد (Rady et al., 2019). یکی از تنش‌های مهمی که امروزه موجب کاهش عملکرد محصولات کشاورزی می‌شود فلزات سنگین است. کادمیوم یک فلز سنگین سمی است که به‌طور طبیعی در محیط زیست وجود دارد و همچنین از طریق منابع مختلف انسانی تولید شده و به‌عنوان آلاینده عمل می‌کند (Shiyu et al., 2020). کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، کاهش عملکرد و اختلال در جذب مواد معدنی از جمله گوگرد و نیتروژن از اثرات مضر کادمیوم در محصولات کشاورزی است که در پژوهش‌های محققان به آن اشاره شده است (Chowardhara et al., 2020). کادمیوم به راحتی جذب و موجب آسیب شدید به گیاهان می‌گردد

* نویسنده مسئول: ksourazar@yahoo.com

(Huang et al., 2017). با این حال، گیاهان دارای مکانیسم متحمل به کادمیوم، از جمله جذب کادمیوم محدود، کاهش جابجایی ریشه به ساقه، فعالیت آنزیم‌های تقویت شده آنتی‌اکسیدان و افزایش تولید فیتوکالتین‌ها هستند (Shiyu et al., 2020).

جوانه‌زنی بذر یکی از مهم‌ترین مراحل رشد و نمو گیاه است و می‌تواند در اثر سمیت فلزات سنگین تغییر کند. تاثیر فلزات سنگین بر ساختار مورفولوژیک و آناتومیک پوشش‌های بذر در گونه‌های مختلف گیاهان متفاوت است که به دلیل خصوصیات متفاوت این گیاهان در نفوذ فلزات به غشای بذر و بافت‌های جنینی آن است (Márquez-Garcia et al., 2013). با توجه به گزارش کوسکوسیدیس و همکاران (Koskosidis et al., 2020) در صورتی که بذر بتواند از مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش عبور کند، گیاهچه آن برای ادامه رشد توانایی بالاتری در جهت تحمل این شرایط به دست خواهد آورد. یکی از روش‌هایی مقرون به صرفه و در عین حال کارا که موجب می‌شود جوانه‌زنی در شرایط تنش بهبود یابد، پرایمینگ می‌باشد (Acharya et al., 2020). در واقع پرایمینگ شرایطی برای بذر به وجود می‌آورد که در مواجهه با تنش و وضعیت اکولوژی محیط، بتواند از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را داشته باشد (Moreno et al., 2018). در پرایمینگ جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد و فقط برخی از فرایندهای فیزیولوژی جوانه‌زنی مانند فعال شدن آنزیم‌ها، هورمون‌ها و تجزیه مواد غذایی در بذر رخ می‌دهد (Halmer, 2004). پرایمینگ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود و این آنزیم‌ها موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید در طی جوانه‌زنی می‌گردد (Farooq et al., 2007).

هیدروپرایمینگ یک روش ارزان و ساده برای بهبود تحمل تنش برای گیاهان است که در این روش بذور 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 متعاقباً بذور از طریق خشک کردن مناسب در زیر سایه به وزن اصلی خود برگردانیده می‌شوند (Jisha et al., 2013). اسموپرایمینگ، نوع خاصی از آماده‌سازی پیش از کاشت بذور می‌باشد که از طریق خیس‌اندن بذور در محلول‌هایی با پتانسیل اسمزی پایین حاوی مواد شیمیایی مختلفی نظیر پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، پلی اتیلن گلیکول، مانیتول و دیگر ترکیبات شیمیایی با وزن مولکولی بالا صورت می‌گیرد (Jisha et al., 2013). اسیدسالیسیلیک به‌عنوان پیش‌تیمار برای افزایش جوانه‌زنی بذرها استفاده می‌شود. اسیدسالیسیلیک یک ترکیب فنلی و هورمونی می‌باشد که به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد داخلی گیاه نقش مهمی در مکانیسم‌های دفاعی در برابر تنش‌های محیطی انجام می‌دهد (Zalai et al., 2000). محققان گزارش داده‌اند که استفاده از اسیدسالیسیلیک جوانه‌زنی در لوبیا را در شرایط تنش فلزات سنگین افزایش داده است، همچنین رشد ریشه گیاهچه، وزن خشک گیاهچه لوبیا نسبت به شاهد (بدون اسیدسالیسیلیک) افزایش یافت (Nouairi et al., 2019; Gul et al., 2020; Wael et al., 2015). همچنین در گزارش محققان کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدسالیسیلیک نتایج بهتری نسبت به سایر غلظت‌های اسیدسالیسیلیک داشت (Eftekhar et al., 2019). با توجه به اهمیت و نیاز کشور برای تامین پروتئین از طریق تولید حبوبات و افزایش آلودگی فلزات سنگین در خاک‌های کشاورزی، با کاربرد پرایمینگ در جهت بردباری و تحمل گیاه لوبیا قرمز در برابر فلز سنگین کلریدکادمیوم این پژوهش انجام شد.

این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به صورت فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح کلریدکادمیوم (صفر (شاهد)، کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) و چهار سطح پرایمینگ (عدم پرایمینگ به عنوان شاهد، پرایمینگ با آب مقطر (هیدروپرایمینگ)، مانیتول (اسموپرایمینگ) و اسیدسالیسیلیک (هورمون پرایمینگ) هر کدام با غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) بودند. به منظور اعمال پیش تیمارها، بذور لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) درون اسیدسالیسیلیک، مانیتول و آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند. سپس، بذور از محلول استاندارد خارج شدند و پس از شستشو با آب مقطر (دو مرتبه) در دمای آزمایشگاه خشک شدند. بذور پرایم شده در ظروف پلاستیکی مخصوص کشت به ابعاد $11/5 \times 9/5 \times 2/5$ سانتی متر به تعداد ۲۵ عدد در هر ظرف بین کاغذ صافی کشت شدند. سپس مقدار ۵ میلی لیتر از محلول کلریدکادمیوم با غلظت‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر به محیط اضافه شدند (برای تیمار شاهد نیز از آب مقطر استفاده گردید). در نهایت ظروف کشت در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۹ روز نگهداری شدند (ISTA, 2009). شمارش بذور جوانه زده به صورت روزانه انجام شد و در صورت نیاز به محیط آب مقطر اضافه گردید. معیار جوانه زنی، خروج ریشه چه به اندازه ۲ میلی متر بود (Soltani et al., 2001). زمانی که تعداد بذور جوانه زده در بستر کشت در طول ۳ روز متوالی هیچ تغییری نکرد و ثابت ماند، شمارش متوقف و نتیجه شمارش نهایی به عنوان درصد جوانه زنی در نظر گرفته شد (ISTA, 2009). برای برآورد شاخص‌های جوانه زنی (درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، یکنواختی جوانه زنی و متوسط زمان جوانه زنی) از برنامه Germin استفاده گردید (Soltani et al., 2001). پس از اتمام مراحل جوانه زنی گیاهچه (روز نهم) طول ریشه چه و ساقه چه با استفاده از خط کش مندرج همچنین، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه با ترازوی حساس در دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری شد. شاخص‌های بنیه بذر نیز با استفاده از روابط زیر به دست آمد (رابطه‌های ۱ و ۲) (Agrawal, 2018).

$$\text{رابطه ۱: درصد جوانه زنی} \times \text{طول گیاهچه (میلی متر)} = \text{بنیه طولی بذر}$$

$$\text{رابطه ۲: درصد جوانه زنی} \times \text{وزن خشک گیاهچه (گرم)} = \text{بنیه وزنی بذر}$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.4 و SPSS18 انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اجرا گردید. جهت ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2018 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم، انواع پرایمینگ و اثر متقابل آن‌ها بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، بنیه طولی بذر، بنیه وزنی بذر، طول ساقه چه، وزن خشک ریشه چه، وزن خشک ساقه چه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. با این حال، اثر متقابل پرایمینگ و کلریدکادمیوم بر صفات متوسط زمان جوانه زنی و طول ریشه چه معنی دار نبود و در صفت یکنواختی جوانه زنی تنها تنش (کلریدکادمیوم) تاثیر معنی دار داشت (جدول ۱).

درصد و سرعت جوانه زنی: آب مقطر و اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش ناشی از ۱۰۰ میلی گرم کلریدکادمیوم موجب افزایش درصد جوانه زنی در مقایسه با تیمار شاهد و مانیتول در شرایط تنش ۱۰۰ میلی گرم کلریدکادمیوم شدند، اما پیش تیمار بذور لوبیا قرمز با مانیتول به مدت ۱۲ ساعت برخلاف تیمار شاهد، اسیدسالیسیلیک و آب مقطر در شرایط

تنش ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکادمیوم از خود مقاومت نشان داد و موجب افزایش حدود ۳ درصد جوانه‌زنی شد. در واقع درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش ناشی از کلریدکادمیوم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به‌ترتیب در تیمار اسیدسالیسیلیک و آب مقطر (۱۰۰ درصد) و مانیتول (۹۶ درصد) بود (جدول ۲). همچنین پیش‌تیمار بذور لوبیا قرمز با اسیدسالیسیلیک به مدت ۱۲ ساعت در دمای آزمایشگاه موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی شد، در واقع اسیدسالیسیلیک حدود ۵۷/۳ درصد سرعت جوانه‌زنی بذور لوبیا قرمز را در مقایسه با تیمار شاهد ارتقا داد، همچنین اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش ناشی از ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کلریدکادمیوم موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی به میزان ۶۹/۲ و ۶۸/۸ درصد در مقایسه با تیمار شاهد شد. مانیتول و آب مقطر نیز موجب افزایش ۲۲ تا ۲۵ درصد سرعت جوانه‌زنی نسبت به تیمار شاهد شدند، لذا استفاده از روش پرایمینگ موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی لوبیا قرمز شد و عنصر فلز کادمیوم با افزایش غلظت موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی لوبیا قرمز گردید (جدول ۲) که به احتمال زیاد کادمیوم در گیاهان باعث عدم توازن جذب آب، مهار رشد و اختلال در جوانه‌زنی شد. تاثیر موثر پرایمینگ بر جوانه‌زنی بذور ممکن است به افزایش فعالیت آنزیم اندو بتاماناز مربوط شود که موجب تضعیف دیواره سلولی و بهبود ظهور ریشه‌چه می‌گردد. روش‌های مختلف پرایمینگ موجب افزایش فعالیت‌های آنزیم‌های هیدرولیزی شده و به دلیل قابلیت دسترسی آسان گیاهچه به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی، بذور پرایمینگ شده از توانایی بالا در تکمیل فرآیند جوانه‌زنی در زمان کوتاه‌تر برخوردار می‌گردند (Babaei Qaqlstany et al., 2016). به‌طور مشابه گزارش شده است که پرایمینگ با اسیدسالیسیلیک سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی، وزن خشک گیاهچه و وزن مخصوص برگ گلرنگ تحت تنش کلریدکلسیم شد (Jam et al., 2012). همچنین در تحقیق دیگری بیان شده که کادمیوم سرعت جوانه‌زنی بذور لوبیا را کاهش داد که به‌نظر می‌رسد کادمیوم موجب تخریب غشای سلولی شده و مرحله جوانه‌زنی را مختل نموده است (Bahmani et al., 2012) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر پرایمینگ و کلریدکادمیوم بر صفات جوانه‌زنی و شاخص‌های فیزیوژنیک و بیوشیمیایی گیاهچه لوبیا قرمز

منبع تغییرات	دوره جوانه‌زنی	وزن ریشه‌چه (گرم)	وزن ساقه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقه‌چه	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)
پرایمینگ (P)	۳	۶/۲۹**	۰/۰۱۸**	۱/۸۷NS	۵/۲۸**	۷۱۹۹۳/۶**	۰/۴۹**	۲/۰۴**	۱/۶۳**	-۰**	۱/۱۶۷E	-۰**
تنش کلرید کادمیوم (S)	۲	۸۰/۴۴**	۰/۰۰۲**	۳/۱۸*	۲/۶۱**	۱۳۱۲۰۹/۴**	۰/۳۹**	۱/۱۲**	۴/۴۸**	-۰**	۱/۸۲۵E	-۰**
P*S	۶	۶/۰۷**	۰/۰۰**	۰/۱۹ ns	۰/۱۹ ns	۱۹۰۲/۰۵**	۰/۰۲۴**	۰/۰۲ ns	۰/۱۴۶**	-۶**	۱/۴۱۷E	-۶**
خطا	۲۴	۰/۷۷	۳/۰۰۰E-۶	۰/۸۷	۰/۱۹۲	۳۳۳/۰۲۶	۰/۰۰۳	۰/۰۱۳	۰/۰۰۱	۲/۱۳۳E-۷	۳/۳۳۳E-۹	۰/۰۰۱
CV (%)	-	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷۸	۱۵/۱۷	۹/۹۶	۰/۰۳	۰/۰۸۱	۰/۰۴۳	۰/۰۴۳	۰/۰۹۶	۰/۰۲۷	۰/۰۹۶

NS، * و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل پرایمینگ و کلریدکادمیوم بر صفات جوانه‌زنی و شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهچه لوبیا قرمز

تیمارهای پرایمینگ	تیمارهای کلرید کادمیوم	جوانه زنی (%)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	بنیه طولی بذر	بنیه وزنی بذر	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم)
شاهد	صفر	۹۸/۶۶ ^a	۰/۱۸۳ ^h	۵۸۷/۵ ^d	۰/۵۲۳ ^d	۳/۷۶ ^f	۰/۰۰۱ ^d	۰/۰۰۴۳ ^d
(بدون پرایمینگ)	۱۰۰	۹۶/۶۶ ^b	۰/۱۶۹ ⁱ	۵۱۱/۸ ^e	۰/۳۹۶ ^e	۳/۲۴ ^h	۰/۰۰۰۸ ^e	۰/۰۰۳۳ ^e
	۲۰۰	۹۳/۶۶ ^c	۰/۱۵۱ ^j	۳۸۶/۳ ^f	۰/۲۸۱ ^f	۲/۵۱ ^k	۰/۰۰۰۷ ^f	۰/۰۰۲۳ ^f
هیدروپرایمینگ	صفر	۱۰۰ ^a	۰/۲۲۹ ^c	۷۳۷/۳ ^b	۰/۷۳ ^c	۴/۳۲ ^c	۰/۰۰۰۲ ^c	۰/۰۰۵۳ ^c
	۱۰۰	۱۰۰ ^a	۰/۲۲۴ ^d	۵۸۴/۳ ^d	۰/۵۳ ^d	۳/۱۲ ⁱ	۰/۰۰۱ ^d	۰/۰۰۴۳ ^d
	۲۰۰	۹۴/۶۶ ^c	۰/۲۲۱ ^e	۵۱۸/۲ ^e	۰/۴۹۲ ^d	۲/۹۹ ^j	۰/۰۰۰۹ ^d	۰/۰۰۴۳ ^d
اسموپرایمینگ	صفر	۱۰۰ ^a	۰/۲۲۵ ^d	۷۶۲/۳ ^{ab}	۱/۰۳ ^b	۴/۵ ^b	۰/۰۰۰۳ ^b	۰/۰۰۷۳ ^a
	۱۰۰	۹۶/۶۶ ^b	۰/۲۲۱ ^f	۹۶۵/۴ ^c	۰/۷ ^c	۴/۱ ^e	۰/۰۰۰۲ ^c	۰/۰۰۵۳ ^c
	۲۰۰	۹۶/۶۶ ^b	۰/۲۰۵ ^g	۵۶۶/۹ ^d	۰/۵۱۲ ^d	۳/۲۲ ^h	۰/۰۰۰۲ ^c	۰/۰۰۳۳ ^e
هورمون پرایمینگ	صفر	۱۰۰ ^a	۰/۲۸۸ ^a	۷۸۳/۳ ^a	۱/۱۳ ^a	۴/۵۵ ^a	۰/۰۰۰۴ ^a	۰/۰۰۷۳ ^a
	۱۰۰	۱۰۰ ^a	۰/۲۸۶ ^a	۷۳۰/۳ ^b	۱/۰۳ ^b	۴/۲۲ ^d	۰/۰۰۰۴ ^a	۰/۰۰۶۳ ^b
	۲۰۰	۹۳/۶۶ ^c	۰/۲۵۵ ^b	۵۶۶/۱ ^d	۰/۶۴ ^c	۳/۵۲ ^g	۰/۰۰۰۳ ^b	۰/۰۰۴۳ ^d

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

یکنواختی و متوسط زمان جوانه: نتایج جدول ۴ نشان داد که افزایش سطوح تنش سبب افزایش میانگین عدد یکنواختی جوانه‌زنی گردید، به عبارت دیگر با افزایش غلظت تنش، یکنواختی کمتری در جوانه‌زنی بذور مشاهده شد (جدول ۳). نتایج مشابهی در تحقیقات پرمون و همکاران (Permon et al., 2013) نیز مشاهده شد، آن‌ها در این راستا گزارش دادند که افزایش غلظت فلزات سنگین کاهش یکنواختی جوانه‌زنی (افزایش عدد یکنواختی) را به همراه دارد. اسیدسالیسیلیک منجر به افزایش معنی‌دار متوسط زمان جوانه‌زنی شد به طوری که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان متوسط زمان جوانه‌زنی به ترتیب در پیش‌تیمار با اسیدسالیسیلیک (۵/۵ روز) و آب مقطر (۳/۷ روز) مشاهده گردید (جدول ۳). آرمین و همکاران (Armin et al., 2010) گزارش کردند که پرایمینگ از طریق کاهش مدت زمان لازم برای جذب آب، موجب کاهش زمان جوانه‌زنی و خروج سریع‌تر ریشه‌چه می‌گردد و در نتیجه آن، فرآیند جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه بهبود می‌یابد. در تحقیقی مشابه، افضل و همکاران (Afzal et al., 2008) گزارش کردند که هیدروپرایمینگ سبب کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی در گیاه ذرت شد. همچنین با توجه به جدول ۳ کلریدکادمیوم متوسط زمان جوانه‌زنی بذور لوبیا قرمز را افزایش داد. بذور برای آغاز فعالیت‌های خود و شروع جوانه‌زنی نیاز به آب دارد با این حال اگر بذر نتواند به اندازه‌ی کافی آب جذب کند یا جذب آب به کندی صورت پذیرد، مدت زمان لازم برای خروج ریشه‌چه نیز افزایش می‌یابد و در نهایت مانع از فعالیت آلفا-آمیلاز می‌گردد (Babaei Qaqlstany et al., 2016) که با نتایج حاصل از تحقیق موسوی و همکاران (Mousavi et al., 2018) بر گیاه کلزا مطابقت دارد.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر اصلی انواع پرایمینگ بر صفات فیزیولوژیکی بذر لوبیا قرمز.

تیمارهای پرایمینگ	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)
شاهد (بدون پرایمینگ)	۴/۱۷۵ a	۱/۹۴ c
هیدروپرایمینگ	۳/۷۴۵ a	۲/۷۴ b
اسموپرایمینگ	۴/۱۵۵ a	۲/۹۴ a
هورمون پرایمینگ	۵/۵۰۵ b	۲/۹۵ a

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

بنیه وزنی و طولی بذر: مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اثر متقابل پرایمینگ و کادمیوم (جدول ۲) بر بنیه وزنی و طولی بذر لوبیا قرمز نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف کلریدکادمیوم میزان بنیه وزنی و طولی بذر لوبیا قرمز را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد کاهش داد و با افزایش غلظت کلریدکادمیوم از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنیه وزنی و طولی بذر به‌طور قابل چشم‌گیری کاهش یافت که با اعمال انواع روش‌های پرایمینگ بنیه وزنی و طولی بذر لوبیا قرمز در مقایسه با تیمار شاهد (عدم پرایمینگ) افزایش یافت. به‌طور کلی بیش‌ترین بنیه وزنی بذر لوبیا قرمز در تیمار اسیدسالیسیلیک برابر ۱/۱۳ بود که حدود ۱۱۶ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد (عدم پرایمینگ) و ۹/۷ تا ۵۴/۷ درصد نسبت به تیمارمانیتول و آب مقطر نشان داد. با کاربرد کلریدکادمیوم بنیه وزنی بذر لوبیا قرمز نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) کاهش یافت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت کلریدکادمیوم از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز بنیه وزنی بذر لوبیا قرمز به‌طور معنی‌داری از لحاظ آماری کاهش یافت. به‌طور کلی کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکادمیوم به‌ترتیب حدود ۳۲ تا ۸۶ درصد در مقایسه با تیمار شاهد (عدم کاربرد کلریدکادمیوم) بنیه وزنی بذر لوبیا قرمز را کاهش داد. همچنین مانیتول در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلریدکادمیوم به‌طور قابل توجهی منجر به افزایش بنیه طولی لوبیا قرمز شد که میانگین آن برابر با ۹۶۵/۴ بود (جدول ۲). با توجه به نتایج این تحقیق به‌نظر می‌رسد که کلریدکادمیوم به همراه آب سریع به داخل بذر نفوذ کرده و موجب اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی لوبیا قرمز شده و در نهایت از رشد گیاهچه ممانعت می‌نماید. در پژوهشی مشابه شریعتمداری و همکاران (Shariatmadari et al., 2018) گزارش کردند که هیدروپرایمینگ موجب افزایش بنیه طولی و وزنی بذور نخود در شرایط عدم تنش و تنش ناش از خشکی شد. در این راستا آنها اظهار داشتند که تسریع فرآیندهای جوانه‌زنی و خروج سریع‌تر گیاهچه بذور پرایم شده در مقایسه با بذور پرایم نشده از جمله مهم‌ترین دلایل احتمالی بروز افزایش بنیه بذر می‌باشد و افزایش سرعت ترمیم DNA، ساخت RNA، سنتز پروتئین، فعال‌سازی آنزیم‌ها، حذف رادیکال‌های فعال اکسیژن، افزایش انبساط سلولی و نیز پیشرفت بیشتر مراحل جوانه‌زنی بذور پرایم شده نسبت به بذور پرایم نشده از مهم‌ترین دلایل بهبود بنیه بذور می‌باشد پرادهان و همکاران (Pradhan et al., 2015) دریافتند که هیدروپرایمینگ جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و قدرت گیاهچه را به‌طور قابل توجهی در شرایط محیطی تنش‌زا و بدون تنش بهبود می‌دهد.

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر اصلی سطوح مختلف کلریدکادمیوم بر صفات فیزیولوژیکی لوبیا قرمز

تیمارهای کلریدکادمیوم	یکنواختی جوانه‌زنی	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)
شاهد (صفر میلی‌گرم بر لیتر)	۱/۲۴۴ a	۳/۸۸۹ a	۲/۹ a
کلریدکادمیوم ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۱/۸۶۷ ab	۴/۸۰۸ b	۲/۷ b
کلریدکادمیوم ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر	۲/۲۶۶ b	۴/۴۸۹ b	۲/۳ c

میانگین‌های با حروف غیرمشترک در هر ستون نشان‌دهنده معنی‌داری براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

طول ریشه چه و ساقه چه: همان طور که مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد پرایمینگ سبب افزایش طول ریشه چه و ساقه چه لوبیا قرمز شد. به طوری که اسیدسالیسیلیک و مانیتول طول ریشه چه را به طور چشم‌گیری افزایش داد. با این حال، بین آن‌ها از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نمایان نشد (جدول ۳). آلاینده کادمیوم از منبع کلرید موجب کاهش طول ریشه چه و ساقه چه لوبیا قرمز شد، به طوری که با افزایش غلظت تنش از ۱۰۰ به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از طول ریشه چه به میزان ۱۷/۴ درصد کاسته شد (جدول ۴). اسیدسالیسیلیک در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر کادمیوم (۴/۲۲ سانتی‌متر) به میزان ۱۲/۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد در شرایط عدم تنش (۳/۷۶ سانتی‌متر) طول ساقه چه را بهبود داد (جدول ۲). طویلی و همکاران (Tavili et al., 2012) اثر اسیدسالیسیلیک را بر جوانه‌زنی بذر جارو علفی در شرایط تنش کادمیوم بررسی کردند، نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها نشان داد که اسیدسالیسیلیک نقشی کلیدی در کاهش تنش ناشی از کادمیوم بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های جارو علفی ایفا می‌کند. همچنین نتایج آزمایش‌ها مشخص کرد که غلظت فلز سمی کادمیوم در ریشه چه خیلی بیشتر از ساقه چه می‌باشد، به طوری که با ظهور برگچه‌ها و رشد آن‌ها به شدت از طول ریشه چه کاسته می‌شود. با این حال، مطالعات نشان می‌دهند که پرایمینگ بذر با هورمون‌های گیاهی ممکن است با کاهش قابل توجهی در جذب این فلزات در قسمت‌های گیاهی، عملکرد محصول را تحت تاثیر تنش فلزات سنگین بهبود بدهد (Sneideris et al., 2015).

وزن خشک ریشه چه و ساقه چه: براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل، پرایمینگ منجر به افزایش وزن خشک ریشه چه و ساقه چه لوبیا قرمز نسبت به تیمار شاهد شد، به طوری که بیش‌ترین میزان وزن خشک ریشه چه و ساقه چه در پیش تیمار اسیدسالیسیلیک مشاهده شد که میزان آن به ترتیب برابر (۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۷۳ گرم) بود که در واقع اسیدسالیسیلیک نسبت به سایر پرایمینگ‌ها و تیمار شاهد منجر به بهبود و ارتقای وزن خشک گیاهچه لوبیا قرمز شد. با این حال، در صفت وزن خشک ساقه چه با تیمارهای مانیتول و آب مقطر اختلاف معنی‌داری از نظر آماری حاصل نشد (جدول ۲). کمترین میزان وزن خشک ریشه چه و ساقه چه در کلرید کادمیوم ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد، لذا با افزایش غلظت کلرید کادمیوم، وزن خشک ریشه چه و ساقه چه لوبیا قرمز کاهش یافت، به طوری که میانگین وزن خشک ریشه چه و ساقه چه لوبیا قرمز در تیمار شاهد تحت شرایط تنش ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلرید کادمیوم به ترتیب (۰/۰۰۰۷ و ۰/۰۰۲۳ گرم) به دست آمد (جدول ۲). اکمچی و همکاران (Ekmekci et al., 2008) کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه ذرت را در شرایط تنش کادمیوم تایید نمودند. کاهش رشد ریشه ممکن است نتیجه تاثیر مستقیم کلرید کادمیوم بر هسته سلولی و لیگنینی شدن دیواره سلولی تحت تنش کلرید کادمیوم باشد (Almeida et al., 2007). مطالعات دیگر نیز افزایش وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور پرایم شده را ناشی از افزایش آنزیم‌های هیدرولیتیک و به دنبال آن افزایش میزان پویایی ذخایر بذر می‌دانند (Sivritepe et al., 2003). به طور کلی اظهار شده که استفاده از پرایمینگ در شرایط تنش‌زا موجب افزایش انتقال مواد ذخیره‌ای بذر به جنین شده و این افزایش در انتقال مواد منجر به رشد بهتر جنین و در نتیجه افزایش جوانه‌زنی و افزایش در سایر شاخص‌های جوانه‌زنی خواهد شد، متعاقباً افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی به افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نسبت داده شد (Ansari et al., 2013).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که سطوح تنش کلریدکادمیوم بر شاخص‌های جوانه‌زنی لوبیا قرمز تاثیر منفی داشت، به طوری که بالاترین سطح تنش کادمیوم (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) کم‌ترین میزان صفات مورد مطالعه را داشت. علاوه بر این نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمارهای مختلف پرایمینگ می‌توانند سبب کاهش اثرات مضر ناشی از تنش کادمیوم گردند. به‌طور کلی استفاده از روش‌های مختلف پرایمینگ به مدت ۱۲ ساعت توانست شاخص‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاهچه لوبیا قرمز را در شرایط عدم تنش و تنش ناشی از کلریدکادمیوم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بهبود ببخشد. با این حال، با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، استفاده از اسیدسالیسیلیک به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب مقطر به مدت ۱۲ ساعت بهترین شرایط را برای رشد لوبیا قرمز تحت تنش کلریدکادمیوم فراهم نمود.

References

- Acharya, P., Jayaprakasha, G.K., Crosby, K.M., Jifon, J.L. and Patil, B.S. 2020.** Nanoparticle-mediated seed priming improves germination, growth, yield, and quality of watermelons (*Citrullus lanatus*) at multi-locations in Texas. *Scientific reports*, 10(1): 1-16.
- Afzal, I., Basra, S.M.A., Shahid, M., Farooq, M. and Saleem, M. 2008.** Priming enhances germination of spring maize (*Zea mays* L.) under cool conditions. *Seed Science and Technology*, 36(2): 497-503.
- Agrawal, R.L. 2018.** Seed technology (2th ed.). Publishinh Co. Pvt. Ltd. New Delhi, India, 848p.
- Ahmadpour Dehkordi, S. and Balouchi H.R. 2012.** Effect of seed priming on antioxidant enzymes and lipids peroxidation of cell membrane in Black cumin (*Nigella sativa*) seedling under salinity and drought stress. *Electronic Journal of Crop Production*, 5(4): 63-85.
- Almeida, A.F., Valle, A.A., Mielke, M.S., Gomes, F.P. and Braz, J. 2007.** Tolerance and prospection of phytoremediator woody species of Cd, Pb, Cu and Cr. *Plant Physiology*, 19: 83-98.
- Ansari, O., Azadi, M.S., Sharif-Zadeh, F. and Younesi, E. 2013.** Effect of hormone priming on germination characteristics and enzyme activity of mountain rye (*Secale montanum*) seeds under drought stress conditions. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 9(3): 61-71.
- Armin, M., Asgharipour, M. and Razavi-Omrani, M. 2010.** The effect of seed priming on germination and seedling growth of watermelon (*Citrullus Lanatus*). *Advances in Environmental Biology*, 4: 501-505.
- Babaei Qaqlstany, A., Asadi Gakiyeh, M., Fallahi, N. and Hatami Ghare Ghoyini, N. 2016.** Osmopriming effect on germination of wheat under allelopathic conditions of foxtail extract. *Seed Research*, 6(18): 11-19.
- Bahmani, R., Hemati, M., Habibi, D. and Forozesh, P. 2012.** Evaluation of germination, root and shoot growth under cadmium stress for different bean genotypes (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Plant Breeding*, 8(4): 145-154.
- Chen, K., Fessehaie, A. and Arora, R. 2012.** Dehydrin metabolism is altered during seed osmopriming and subsequent germination under chillin and desiccation in *Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale: possible role in stress tolerance. *Plant Science*, 183: 27-36.
- Chowardhara, B., Borgohain, P., Saha, B., Awasthi, J.P. and Panda, S.K. 2020.** Differential oxidative stress responses in *Brassica juncea* (L.) Czern and Coss cultivars induced by cadmium at germination and early seedling stage. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42: 1-12.
- Eftekhari, 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.
- Ekmekci Y., Tanyola, D. and Ayhan, B. 2008.** Effects of cadmium on antioxidant enzyme and photosynthetic activities in leaves of two maize cultivars. Journal of Plant Physiology, 165: 600-611.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Rehman, H., Ahmad, N. and Saleem, B.A. 2007.** Osmopriming improve the germination and early seedling growth of melons (*Cucumis melon* L.). Pakistan Journal of Agricultural Science, 44(3): 529-536.
- 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.
- Halmer, P. 2004.** Methods to improve seed performance in the field. In: Benech-Arnold, R. L., Sánchez, R.A. (Eds.), Handbook of Seed Physiology, Applications to Agriculture, Haworth Press, Inc, New York, pp: 125-166.
- ISTA. 2009.** International rules for seed testing. The International Seed Testing Association (ISTA).
- Jam, B.J., Shekari, F., Azimi M.R. and Zangani, E. 2012.** Effect of priming by salicylic acid on germination and seedling growth of safflower seeds under CaCl_2 stress. International Journal Agriculture: Research and Review, 2(S): 1097-1105.
- Koskosidis, A., Ebrahim, K.H.A.H., Mavromatis, A., Pavli, O. and Vlachostergios, D.N. 2020.** Effect of PEG-induced drought stress on germination of ten Chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 48(1): 294-304.
- Márquez-García, B., Márquez, C., Sanjose, I., Nieva, F.J.J., Rodríguez Rubio P. and MunozRodríguez, A.F. 2013.** The effects of heavy metals on germination and seedling characteristics in two halophyte species in Mediterranean marshes. Marine Pollution Bulletin, 70(1-2): 119-124.
- Moreno, C., Seal, C.E. and Papenbrock, J. 2018.** Seed priming improves germination in saline conditions for *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus caudatus*. Journal of Agronomy and Crop Science, 204(1): 40-48.
- Mousavi, S.I., Omid, H., Shekari, Sh. and Bazvand. F. 2018.** Effect of priming on germination, growth and physiological indices of seed of rapeseed rye cultivar Neptune (*Brassica napus* L.) under drought stress. Seed Research Journal, 9(3): 11-21.
- 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.
- Permon, Q., Ebadi, A., Ghahremani, M. and Mousavi, S.A. 2013.** The effect of heavy metals on germination indices and seed strength of *Zea mays* in vitro. Seed Research Journal, 4(3): 40-51.
- Pradhan, N., Prakash, P., Manimurugan, C., Tiwari, S.K., Sharma, R.P. and Singh, P.M. 2015.** Screening of tomato genotypes using osmopriming with PEG 6000 under salinity stress. Research in Environment and Life Science, 8(2): 245-250.
- Rady, M.M., Elrys, A.S., El-Maati, M.F.A. and Desoky, E.S.M. 2019.** Interplaying roles of silicon and proline effectively improve salt and cadmium stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* plant. Plant Physiology and Biochemistry, 139: 558-568.
- Shariatmadari, M.H., Parsa, M., Nezami, A. and Kafi, M., 2018.** Effect of hydropriming on germination and growth indices in chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress in vitro and glass house condition. Iranian Journal of Seed Science and Technology, 7: 243-256.
- Shiyu, Q.I.N., Hongen, L.I.U., Zhaojun, N.I.E., Rengel, Z., Wei, G.A.O., Chang, L.I. and Peng, Z.H.A.O. 2020.** Toxicity of cadmium and its competition with mineral nutrients for uptake by plants: A review. Soil Science Society of China. Published by Elsevier B.V. and Science Press. Pedosphere, 30(2): 168-180.

- Sivasubramaniam, K., Geetha, R., Sujatha, K., Raja, K., Sripunitha, A. and Selvarani, R. 2011.** Seed priming: triumphs and tribulations. *Madras Agriculture Journal*, 98: 197-209.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.O. and Eris, A. 2003.** The effect of NaCl priming on salt tolerance in melon seedling grown under saline condition. *Scientia Horticulturae* 97: 229-237.
- Smith, M.R., Veneklaas, E., Polania, J., Rao, I.M., Beebe, S.E. and Merchant, A. 2019.** Field drought conditions impact yield but not nutritional quality of the seed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *PLoS One*, 14(6): 1-18
- Sneideris, L.C., Gavassi, M.A., Campos, M.L., D'Amico-Damião, V. and Carvalho, R.F. 2015.** Effects of hormonal priming on seed germination of pigeon pea under cadmium stress. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87(3): 1847-1852.
- 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: 653-662.
- Tavili, A., Saberi, M., Shahriari, A. and Heidari, M. 2012.** Salicylic acid effect on *Bromus tomentellus* germination and initial growth properties under cadmium stress. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 2: 208-2016.
- Uche, O.J., Adinde, J.O., Omeje, T.E., Agu, C.J. and Anieke, U.J. 2016.** Influence of hydropriming on germination and seedling emergence of green bell pepper (*Capsicum annum* cv Goliath). *International Journal of Natural*, 7(1): 70-75.
- 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.
- Zalai, G., Tari, I., Janda, T., Pestenác, A. and Páldi, E. 2000.** Effects of cold acclimation and salicylic acid on changes in ACC and MACC contents in maize during chilling. *Biology of Plant*, 43: 637-640.

**The effect of hydropriming, osmopriming and hormonepriming
on germination and physiological characterization of French bean
(*Phaseolus vulgaris*) seeds under cadmium stress**

Khadijeh Sourazar^{1*}, Mohammad Sedghi², Raouf Seyed Sharifi²

¹Graduate M.Sc. of Seed Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources,
University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

²Professor, Dept. of Production Science and Engineering, Plant Genetics, Faculty of Agriculture and
Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Abstract

In order to investigate the effect of various priming methods on physiological and biochemical traits of French bean seedling under cadmium chloride stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications in the laboratory of the Faculty of Agriculture, Mohaghegh Ardabili University, Iran. Factors included three levels of cadmium chloride (0 (control), 100 and 200 mg/L) and four levels of priming (content control (no priming), distilled water, mannitol and salicylic acid each with a concentration of 100 mg/L) were for 12 hours. The results showed that priming with salicylic acid increased the percentage and germination rate by 3 to 61% under stress of 100 mg/L cadmium chloride compared to the control treatment. Also, the interaction of salicylic acid and cadmium chloride increased the longitudinal strength and weight of French bean seed by 42 to 160%, shoot and root dry weight by 30 to 400% compared to the control treatment. Therefore, priming with salicylic acid is the best way to increase and improve the growth of red beans under non-stress and cadmium chloride stress.

Keywords: Cadmium chloride, Germination, Salicylic acid, Seed vigor

*Corresponding author: ksourazar@yahoo.com