مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی لوبیا چشم بلبلی تحت شرایط تنش خشکی

میررضا میری، فرشاد قوشچی*، حمیدرضا توحیدی مقدم، حمیدرضا لاریجانی و پورنگ کسرائی

گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۹/۲۲)

چکیده

خشکی خطر جدی برای تولید محصولات زراعی ازجمله لوبیا است که به تنش خشکی حساس می‌باشد. بنابراین استفاده از روش‌های مدیریتی برای کاهش اثرات خشکی اهمیت فراوانی دارد. به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر خصوصیات کمی و کیفی لوبیا چشم بلبلی تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار طی سال زراعی ۱۳۹۷ در شهر ری اجراء گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل رژیم‌های آبیاری در سه سطح (۵۰ ، ۷۰ و ۹۰ میلیمتر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A) در کرت‌های اصلی و سه مقدار گلایسین بتائین (عدم محلول‌پاشی، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در لیتر) و سه مقدار اسید جیبرلیک (عدم محلول‌پاشی، ۶۰ و ۱۲۰ پی‌پی‌ام) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی بودند. صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل محتوای پرولین، مالون دی آلدهید، فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک، میزان پروتئین، عملکرد پروتئین و عملکرد دانه بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات رژیم آبیاری، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان اسید جیبرلیک، عملکرد دانه، میزان پروتئین و عملکرد پروتئین کاهش یافتند در حالی که میزان محتوای پرولین، مالون دی آلدهید، فعالیت کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلایسین بتائین به طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک در تمامی سطوح تنش خشکی موجب کاهش مالون دی آلدهید، فعالیت کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و افزایش میزان پرولین، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک، میزان پروتئین و عملکرد پروتئین گردید. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد خارجی گلایسین و اسید جیبرلیک با کاهش اثرات سو تنش موجب بهبود رشد لوبیا چشم بلبلی گردید. همچنین نتایج نشان داد که غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک نسبت بـه سایر سطوح از کارآیی بهتری برخوردار بود و باعث تحمل بیشتر لوبیا چشم بلبلی در برابر تنش خشکی می‌شود.

کلمات کلیدی: اسید جیبرلیک، تنش خشکی، عملکرد، لوبیا چشم بلبلی، گلایسین بتائین

مقدمه

لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) یکی از مهمترین حبوبات است که تمام قسمت‌های آن دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد (داودی و همکاران، ۱۳۹۷). دانه این گیاه دارای

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: far.ghooshchi@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

۲۰ تا ۲۵ درصد پروتئین، ۵۵ تا ٦۰ درصد کربوهیدرات و همچنین دارای مقادیر مناسبی از چربی، مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷). شاخ و برگ این گیاه برای غذای دام مورد استفاده قرار می‌گیرد و به دلیل توانایی تثبیت زیستی نیتروژن در خاک، برای رشد به خاک حاصلخیز نیازی ندارد. گیاهان در طول دوره رشد خود با تنش‌های محیطی زیادی مواجه می‌شوند که هر یک از این تنش‌ها می‌توانند با توجه به مرحله رشد و میزان حساسیت گونه گیاهی آثار متفاوتی بر نمو، رشد و عملکرد آن‌ها داشته باشند و سبب تغییرات مولکولی، بیوشیمیایی، متابولیکی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی متعددی در آن‌ها شود که این امر موجب افت شدید در رشد گیاه و در نتیجه کاهش محصول می‌شود (مقدم و همکاران، ۱۳۹٤). پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی متفاوت است. همچنین توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی به نوع، شدت و مدت تنش، زمان وقوع، مرحله رشد و گونه گیاهی بستگی دارد (قلی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۸). گیاهان برای کاهش اثر سوء تنش خشکی از مکانیسم‌های متابولیسمی مختلفی استفاده می‌کنند (Pérez-Clemente *et al*., 2013). تجمع تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محلول‌های سازگارکننده از طریق جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشاء و با کاهش اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن و نیز با حفاظت از پروتئین‌های غشاء، به سلامت و یکپارچگی غشاء کمک نموده و باعث افزایش تحمل به تنش خشکی گیاهان می‌شوند (Zhang *et al*., 2008).

اسید جیبرلیک یکی از هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که نقش مهمی را در رشد، نمو و پاسخ گیاهان به شرایط نامساعد محیطی از جمله تنش خشکی را ایفا می‌کند (چهرازی و همکاران، ۱۳۹٦؛ قنبری و همکاران، ۱۳۹۸). اسید جیبرلیک باعث تحریک تقسیم یاخته‌ای و طویل شدن طول برگ و ساقه، افزایش توان فتوسنتز، تحریک توسعهٔ گل، گلدهی یکسان، افزایش اندازه و شمار گل می‌شود و با تغلیظ شیرهٔ یاخته‌ای از راه آبکافت (هیدرولیز) نشاسته به قند و افزایش کشش‌پذیری دیوارهٔ یاخته، سبب کاهش پتانسیل آب در یاخته شده و موجب ورود آب بیشتر به درون یاخته و در نتیجه تحمل به تنش خشکی می‌شود (Leite *et al*., 2003). تأثیر مثبت اسید جیبرلیک بر رشد، نمو و صفات مختلف در گیاهانی از قبیل گندم (Ashraf *et al*., 2002)، آویشن (پازکی و همکاران، ۱۳۹۱)، بادرشبو (عباسپور و رضایی، ۱۳۹۳)، نخود (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۵)، گل میمون (چهرازی و همکاران، ۱۳۹٦)، لوبیا سفید (Abbasi *et al*., 2019)، کلزا (Maleki and Fathi, 2019)، ذرت (پورغلام و همکاران، ۱۳۹۸) و کلزا (Khan *et al*., 2020) به اثبات رسیده است.

یکی دیگر از مکانیسم‌های گیاهان جهت تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، تغییر در غلظت محلول‌های سازگارکننده است. گلایسین بتائین یکی از معمول‌ترین و متداول‌ترین اسیدهای آمینه در گیاهان می‌باشند که از طریق تنظیم اسمزی سلول، حفاظت از پروتئین‌ها و غشاهای سلولی در مقابل دماهای بالا، پایداری غشا، خنثی‌سازی سمیت انواع اکسیژن فعال، کاهش آسیب سلولی و محافظت از آنزیم‌های مختلف، در شرایط تنش نقش تنظیم‌کننده اسمزی را دارد و تحمل گیاهان را به تنش افزایش می‌دهد (Ashraf and Foolad, 2007). کاربرد خارجی گلایسین بتائین به صورت تیمار با بذر یا محلول‌پاشی روی برگ و اندام گیاه به منظور افزایش تحمل به تنش در گیاهان گزارش شده است (Ashraf and Foolad, 2007). در همین راستا گزارش شده است که محلول‌پاشی گلایسین بتائین در نخود دیم سبب افزایش اجزای عملکرد و عملکرد گردیده است (سالک معراجی و حاتمی، ۱۳۹۹). محلول پاشی گلایسین بتائین به صورت استعمال خارجی نیز سبب افزایش تعداد شاخه فرعی، تعداد نیام در بوته، پروتئین دانه و عملکرد دانه سویا گردید (رضایی، ۱۳۸۹). تأثیر مثبت کاربرد خارجی گلایسین بتائین در گیاهان مختلف از جمله برنج (Tisarum *et al*., 2019)، سورگوم (کدخدایی و همکاران، ۱۳۹۵)، کلزا (کدخدایی و همکاران، ۱۳۹۳)، ذرت (میری و ضمانی مقدم، ۱۳۹۳)، انگور (محمدزمانی و همکاران، ۱۳۹۱) و گوجه فرنگی (تقدیسی سیار و همکاران، ۱۳۹۵) گزارش شده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

از آنجاییکه تنش خشکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد محصولات به شمار می‌آید، بنابراین مطالعه روی مکانیسم‌های تحمل گیاهان به تنش خشکی ضروری می‌باشد. در این میان استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و اسیدهای آمینه در بهبود و کاهش اثرات مضر تنش خشکی در گیاهان می‌تواند مؤثر و سودمند باشد. لذا با توجه به اهمیت لوبیا چشم بلبلی از نظر ارزش غذایی، آزمایشی با هدف بررسی تأثیر گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و بیوشیمیایی این گیاه در شرایط تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر خصوصیات فیزیولوژیک، عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم بلبلی تحت شرایط تنش خشکی، آزمایشی به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار طی سال زراعی ۱۳۹۷ در مزرعه‌ای آزمایشی در شهر ری تهران با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲٤ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۰٤۰ متر از سطح دریا انجام گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل تنش خشکی در سه سطح (۵۰ ، ۷۰ و ۹۰) میلیمتر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A در کرت‌های اصلی و سه مقدار گلایسین بتائین (عدم محلول‌پاشی، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در لیتر) و سه مقدار اسید جیبرلیک (عدم محلول‌پاشی، ٦۰ و ۱۲۰ پی‌پی‌ام) به‌صورت فاکتوریل در کرت‌های فرعی بودند. در این آزمایش از رقم کامران که از بانک ژن حبوبات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تهیه شد بود، استفاده گردید. قبل از اجرای آزمایش، از عمق صفر تا ۳۰ سانتیمتری خاک محل آزمایش نمونه‌برداری مرکب انجام گرفت و ویژگی‌های مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک تعیین گردیدند (جدول ۱).

برای انجام عملیات خاکورزی از گاوآهن برگرداندار سه خیش به همراه دو بار عملیات دیسک‌زنی برای از بین بردن کلوخه‌های سطحی خاک استفاده شد. پس از شخم و قبل از دیسک، کودهای مورد نیاز خاک، شامل نیتروژن (۵۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع اوره)، پتاسیم (۸۰ کیلوگرم پتاس خالص در هکتار از منبع سولفات پتاسیم) و فسفر (۷۰ کیلوگرم فسفر خالص در هکتار از منبع فسفات آمونیوم) به خاک مزرعه اضافه گردید. به منظور یکنواخت شدن وضعیت خاک مزرعه، ماله زده شد و در زمان کشت با فاروئر جوی و پشته‌هایی به فاصله ۷۵ سانتیمتر از هم ایجاد گردید. در تاریخ ١٤ تیرماه سال ۱۳۹۷ عملیات کاشت انجام شد. جهت کشت روی هر پشته با استفاده از فوکا شیاری به عمق ٤-۳ سانتیمتر ایجاد شد. به منظور اطمینان از رویش یکنواخت، بذور با تراکم زیاد درون شیار روی پشته‌ها کشت شده و سپس روی این بذور با مخلوط خاک نرم و ماسه پوشانده شد. پس از عملیات تهیه زمین، کاشت انجام شد. این آزمایش از ۲۷ کرت تشکیل شد. هر کرت شامل ۵ خط کشت به طول ٤ متر که فاصله بین بوته‌های روی ردیف ۲۰ سانتیمتر و بین ردیف ۷۵ سانتیمتر، بین کرت‌های اصلی ۱/۵ متر و بین کرت‌های فرعی یک متر در نظر گرفته شد. کشت به صورت جوی و پشته و آبیاری نشتی انجام شد. آبیاری به نحوی بود که یک روز بعد از کشت آبیاری انجام شد. از مرحله چهار برگی آبیاری‌های بعدی با توجه به تیمارهای آبیاری بر مبنای نقشه طرح و بر اساس تشت تبخیر انجام گردید. آب مورد استفاده برای آبیاری مزرعه دارای pH حدود ۷/۳ و هدایت الکتریکی آن برابر با ۰/٦ دسی‌زیمنس بر متر بود. زمان اعمال تیمارهای گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک با غلظت‌های مورد نظر در دو مرحله از نمو گیاه، یکی در زمان قبل از مرحله زایشی (حدوداً ۲۵ روز پس از کاشت) و دیگری پس از ورود به مرحله زایشی (حدوداً ٤۵ روز پس از کاشت) بود. محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک با کمک سم‌پاش دستی ۵ لیتری انجام شد. نحوه محلول‌پاشی به این صورت انجام گرفت که بر روی تمام قسمت‌های بوته قطرات محلول جاری شد، به طوریکه اندام‌های هوایی خیس شدند. همه مراحل محلول‌پاشی در هنگام عصر صورت گرفت تا تبخیر از سطوح برگ به حداقل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

مشخصه	مقدار	مشخصه	مقدار
بافت خاک	لومی	پتاسیم (میلی‌گرم برگرم)	٤٥٢
pH	٧/٧	مس (پی‌پی‌ام)	١/٠
میزان شوری (دسی‌زیمنس بر متر)	١/٧٩	روی (پی‌پی‌ام)	٦٨/٧
کربن آلی (درصد)	١/١	منگنز (پی‌پی‌ام)	٣٣/١٦
نیتروژن (میلی‌گرم برگرم)	٥/١	آهن (پی‌پی‌ام)	٦٦/٣
فسفر (میلی‌گرم برگرم)	٦/٠		

برسد. در طول فصل رشد وجین علف‌های هرز بصورت دستی انجام شد و جهت کنترل آفات مکنده از سم متاسیستوکس (یک و نیم در هزار) استفاده شد. برداشت نیز در تاریخ ۲ آبان ماه سال ۱۳۹۷ انجام شد.

اندازه‌گیری صفات: دو هفته پس از اعمال آخرین محلول‌پاشی، نمونه‌برداری از بوته‌های هر کرت جهت اندازه‌گیری صفات از قبیل پرولین، مالون دی آلدهید، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک انجام شد. نمونه‌برداری به صورت تصادفی از برگ‌های فعال و کاملاً توسعه یافته قسمت فوقانی بوته‌های هر کرت انتخاب شد.

محتوای پرولین: میزان پرولین برگ به روش بیتس و همکاران (Bates *et al*., 1973) اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ۰/۱ گرم از نمونه‌های تر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد به وسیله هاون، هموژن شده و عصاره‌های حاصل در سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند تا مواد اضافی از محلول جدا شوند. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده فوق ۲ میلی‌لیتر اسید استیک و ۲ میلی‌لیتر ناین‌هیدرین (شامل ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین، ۳۰ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار) اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام بن ماری و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، پس از آن برای پایان یافتن واکنش، لوله‌های آزمایش در داخل بستر یخی قرار گرفتند و ۷ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model: V-530, Japan, JASCO) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد و میزان پرولین برحسب میلی‌گرم بر گرم ماده‌تر ($mg.g^{-1}FM$) محاسبه گردید.

مالون دی آلدهید: میزان اکسایش گیاهچه‌ها بر پایه تجمع مالون دی آلدهید برگ با استفاده از تیوباربیتوریک اسید تعیین شد. ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه برگی در ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (TCA ۱ درصد) هموژن شده و به مدت پانزده دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. ۱ میلی‌لیتر از سوپرناتانت به دست آمده با ۲ میلی‌لیتر محلول تیوبار بیتوریک اسید (TBA ۵ درصد) حاوی اسیدتریکلرواستیک (TCA ۲۰ درصد) مخلوط و در حمام آب جوش (۹۵ درجه سلسیوس) به مدت سی دقیقه قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ده دقیقه و با سرعت ۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند، جذب و چگالی نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر Shimadzu UV-160) تعیین شد. غلظت مالون دی آلدهید بر پایهٔ فرمول زیر محاسبه شد که D اشاره به چگالی و E ضریب تمایز مولار (مول/سانتی‌متر ۱۰۵×۱/٥٦) دارد (Carmak and Horst, 1999).

$$C = \frac{D}{E}$$

آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

(Shimadzu UV-160) به روش (Scebba et al., 1998) اندازه‌گیری شد. مواد استفاده شده شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) میلی‌مولار، ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳/۴۱ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بوده و فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ($\mu mol.min^{-1}\ mg^{-1}$) محاسبه شد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) به روش (Ranieri *et al*., 2003) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸) ۵۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن یک میلی‌مولار و عصاره پروتئینی به میزان ۱۰ میکرولیتر بود. از آنجا که حداکثر جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ nm صورت می‌گیرد، دستگاه روی این طول موج تنظیم شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ($\mu mol.min^{-1}\ mg^{-1}$) محاسبه شد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) به روش (Ranieri *et al*., 2003) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸) ۵۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن یک میلی‌مولار و عصاره پروتئینی به میزان ۱۰ میکرولیتر بود. از آنجا که حداکثر جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ nm صورت می‌گیرد، دستگاه روی این طول موج تنظیم شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ($\mu mol.min^{-1}\ mg^{-1}$) محاسبه شد.

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD): اندازه‌گیری فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز طبق روش (Beyer and Fridovich, 1987) انجام شد. فعالیت این آنزیم به صورت فتومتریک بررسی شد. بافر اصلی واکنش شامل بافر فسفات (pH=۷/۸) ۱۰۰ میلی‌مولار، متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار، EDTA میکرومولار و ترایتون ایکس ۱۰۰ (۰/۰۲۵ درصد) بود. از بافر اصلی به هر چاهک به میزان ۲۹۰ میکرولیتر اضافه شد. سپس از بافر ریبوفلاوین ۲ میکرومولار به میزان ۵ میکرولیتر به مخلوط واکنش اضافه شد و دستگاه روی طول موج ۵۶۰ nm کالیبره شد. برای سنجش هر نمونه ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استفاده شد. این واکنش بر اساس میزان احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم و توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از این واکنش بررسی شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس واحد آنزیم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ($U\ min^{-1}\ mg^{-1}$) محاسبه شد.

آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX): فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس به روش (Chance and Maehly, 1955) اندازه‌گیری شد. نوع و میزان مواد لازم مورد برای سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات منوسدیک ۵۰ میلیمولار (pH=۷)، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد، ۳ میکرولیتر محلول گایاکول ۲۰۰ میلیمولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. دستگاه طیف سنج نوری روی ۴۷۰ نانومتر تنظیم و با محلول شاهد که شامل همهٔ مواد یادشده به استثنای عصاره آنزیم بود، واسنجی (کالیبره) شد. فعالیت آنزیم به مدت سه دقیقه و در فاصله‌های زمانی بیست ثانیه‌ای ثبت شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. میزان جذب با افزایش زمان روند افزایشی داشت. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بر پایهٔ میزان جذب ترکیب نارنجی رنگ تتراگایاکول در میلی‌گرم غلظت پروتئین ($U\ min^{-1}\ mg^{-1}$) محاسبه شد.

گلایسین بتائین: برای تعیین میزان گلایسین بتائین برگ گیاه لوبیا چشم بلبلی از روش Grieve و Grattan (1983) استفاده شد. ۱۲۵ میلی‌گرم از ماده خشک لوبیا با پنج میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ سانتیگراد به صورت مکانیکی تکان داده و نمونه‌ها از کاغذ صافی عبور داده شدند. سپس نمونه‌ها به نسبت ۱:۱ با اسید سولفوریک دو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

نرمال رقیق شدند. از این محلول‌های رقیق شده ۰/۵ میلی‌لیتر در تیوب‌ها ریخته و در آب یخ به مدت یک ساعت سرد گردید. سپس مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر یدید پتاسیم-ید ($KI-I_2$) سرد به محلول‌ها اضافه شد و محلول به آرامی ورتکس شد. سپس نمونه‌ها در دمای چهار سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت قرار داده شدند. بعد از سپری شدن این مدت، نمونه‌ها با دور ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. محلول روشناورها دور ریخته و کریستال پریداید را در ۹ میلی‌لیتر دیکلرواتان حل شدند. بعد از ۲/۵-۲ ساعت، میزان جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوانده شد و میزان گلایسین‌بتائین برحسب میلی‌گرم بر گرم ماده خشک ($mg.g^{-1}$ DM) با استفاده از منحنی استاندار محاسبه گردید.

اسید جیبرلیک: جهت اندازه‌گیری هورمون اسید جیبرلیک، مقدار یک گرم بافت برگ در محلول حاوی متانول-آب-اسید استیک با نسبت (۳۰-۷۰-۱) قرار گرفت و توسط هموژنایزر به صورت هموژن در آمد. این محلول به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. در پایان محلول رویی بر ستون C18 از نوع SPE قرار گرفت و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول اتانول-آب-اسید استیک (۸۰-۲۰-۱) شستشو شد. این محلول استخراجی در حرارت آزمایشگاه خشک و هورمون اسید جیبرلیک توسط HPLC مدل ۴۶۰۰ ساخت شرکت Unicam آمریکا بر حسب نانومول بر گرم ماده خشک ($nmol.g^{-1}$ DM) تعیین غلظت گردید (قنبری و همکاران، ۱۳۹۸).

در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه، از سه خط میانی هر کرت پس از حذف ۰/۵ متر از ابتدا و انتهای هر خط، در سطح ۲ متر مربع تمام بوته‌ها برداشت شده و پس از آن بوته‌ها خرمنکوبی شدند و دانه‌های به دست آمده با ترازوی دقیق توزین شده و پس از تبدیل به عنوان عملکرد دانه در واحد سطح (کیلوگرم در هکتار) محاسبه گردید. میزان پروتئین با استفاده از روش (Lowry *et al.*, 1951) به صورت درصد (٪) اندازه‌گیری شد. عملکرد پروتئین نیز از حاصلضرب دو صفت درصد پروتئین و عملکرد دانه برحسب کیلوگرم در هکتار به دست آمد (دیلمی و مجدم، ۱۳۹۸).

تجزیه و تحلیل آماری: ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون کولموگروف-اسیمروف (Kolmogorov-Smirnov) با استفاده از نرم افزار SPSS ver 20 (2010) مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات با استفاده از نرم افزار آماری SAS ver 9.1 (2011) انجام پذیرفت. برای مقایسه میانگین صفات، از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمون نرمال بودن مشاهدات نشان داد که توزیع داده‌ها برای همه صفات از توزیع نرمال پیروی می‌کرد (نتایج نشان داده نشده‌اند). بنابراین شرایط لازم برای انجام تجزیه واریانس وجود داشت.

پرولین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات رژیم آبیاری، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک، گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک، رژیم آبیاری × گلایسین بتائین، رژیم آبیاری × اسید جیبرلیک و رژیم آبیاری × گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر سه گانه رژیم آبیاری × گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک نشان داد که بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر، محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک و کمترین مقدار مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر و عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بود (جدول ۳). پرولین به عنوان مخزن ذخیره‌ای نیتروژن در شرایط تنش خشکی در گیاه افزایش پیدا کرده و با کاهش پتانسیل اسمزی سیتوپلاسم و حفظ فشار آماس سبب افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شود (Agarwal and Pandey, 2004). Tewari و Singh (1991) گزارش کردند که افزایش میزان پرولین تحت تنش خشکی ممکن است به علت سنتز مجدد پرولین و یا به واسطه شکستن پروتئین‌های غنی از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر صفات مورد مطالعه لوبیا چشم بلبلی تحت شرایط تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		پرولین	مالون دی آلدهید	کاتالاز	سوپر اکسید دیسموتاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۰۱۲^{ns}	۰/۰۱۲۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰٤^{ns}	۰/۰۰۰۸۹۷**	۰/۰۰۰۰۰۰۳۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۳۵**
آبیاری	۲	۱۰/۱۱۷٤٤٥۷**	۱۵۷۷/۲٦**	۰/۰۰۱۷۰۸**	۰/۳۹٦۹٦٦**	۰/۰۰۱۰۷۲۱۵**	۰/۰۰۲۳۷۵**
خطای اصلی	٤	۰/۰۰۲۵۱۲٤	۳/۱٦	۰/۰۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۰۰۰۸
گلایسین‌بتائین	۲	۰/۹٤٤۱۲۷۲**	۲٤۰/۱٦**	۰/۰۰۱۳۸۷**	۰/۰۲٤٤۰۷**	۰/۰۰۰۰۸۹۰٤**	۰/۰۰۰۱٦**
اسید جیبرلیک	۲	۰/۳۱۲۰۷۹۰**	٦۲/۸٤**	۰/۰۰۰۷۰۰**	۰/۰۱۰٦٦۱**	۰/۰۰۰۰۳٦۷۸**	۰/۰۰۰۰٦۳۵**
گلایسین‌بتائین × اسید جیبرلیک	٤	۰/۰۳٦۹۱۰۵**	۱۷/۲۵**	۰/۰۰۰۰۱۹**	۰/۰۰۰٦۷۵**	۰/۰۰۰۰۰۰۳۰^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۲۷**
آبیاری × گلایسین‌بتائین	٤	۰/۰۰۹۵۰۱۲**	٦/۱۳**	۰/۰۰۰۰۰٦^{ns}	۰/۰۰۰۲۸٦**	۰/۰۰۰۰۰۰۳۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱۱^{ns}
آبیاری × اسید جیبرلیک	٤	۰/۰۱۲۵۷۷۲**	۰/٤۵^{ns}	۰/۰۰۰۰۳٦**	۰/۰۰۰۳۰۷**	۰/۰۰۰۰۰۱۰۹^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۷^{ns}
آبیاری × گلایسین‌بتائین × اسید جیبرلیک	۸	۰/۰۰۸۷۷۷۲**	۰/۷۸^{ns}	۰/۰۰۰۰۲۲**	۰/۰۰۰۲۲۲**	۰/۰۰۰۰۰۰٦٦^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۳^{ns}
خطای فرعی	٤۸	۰/۰۰۲۱٦۸٤	۰/۹۸	۰/۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۷۰	۰/۰۰۰۰۰۰٦٤	۰/۰۰۰۰۰۰۵۱
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۰۷	٦/۷۹	۵/۲۷	۱/۷۲	٦/۱٦	۲/٦۷
		گلایسین بتائین	اسید جیبرلیک	میزان پروتئین	عملکرد پروتئین	عملکرد دانه	
تکرار	۲	۰/۰۱۵^{ns}	٦/۹۱^{ns}	۰/۱٤^{ns}	۱۲۲۳۹^{ns}	۱۲۰۱۰۰۰*	
آبیاری	۲	٤۵/۰۱۷**	۱۵٤٦٤٦**	۸۸/۲۱**	۱۳۸۸۵۹٤**	۲٤۸۳۷٦٦۸**	
خطای اصلی	٤	۰/۲۳۵	۱۰۳٦/۱۵	۰/٤۱	۷۳۱٦۸	۳٤۹۱۵٦	
گلایسین‌بتائین	۲	۳۱/۱۰٦**	٦۷۵٦/۱۷**	۹/۳۲**	۷۵۰۸۸۸**	۳۷۰۲٦۱۱**	
اسید جیبرلیک	۲	٦/٦۹٤**	٤۸۳۵/٤۱**	۲/٦۵**	۱۹۵۵۸**	٦۱۰۷۷٤۵*	
گلایسین‌بتائین × اسید جیبرلیک	٤	۰/٦٤۷**	۳۲۵/۰۱^{ns}	۰/٤٤^{ns}	۹٤۹۹*	۵۱۱۱۷۷^{ns}	
آبیاری × گلایسین‌بتائین	٤	۰/۱۱۸^{ns}	٦۲/٦۵^{ns}	۰/۱٦^{ns}	٤۲۱۲^{ns}	۱۹۲۱۲۸*	
آبیاری × اسید جیبرلیک	٤	۰/۱۵۱^{ns}	۳٦/۵۰^{ns}	۰/۰۷^{ns}	۳۳۷۵^{ns}	۰٤۷۸۸۵^{ns}	
آبیاری × گلایسین‌بتائین × اسید جیبرلیک	۸	۰/۱۱۲^{ns}	۳۲/۸۲^{ns}	۰/۰٦^{ns}	۲۱۱۸۹^{ns}	۹۲۱٦۲۸^{ns}	
خطای فرعی	٤۸	۰/۱۰۵	۲۲۷/۷۹	۰/۰۲۱	۳۱۵٦۲	٦۳۳۳٦۱	
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۰۹	۳/۰٦	۲/۰۲	۱۲/۵٤	۱۳/۳۱	

**معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد. *معنی‌دار در سطح پنج درصد. ^{ns} غیرمعنی‌دار

پرولین باشد. افزایش میزان پرولین در اثر تنش خشکی در گوجه فرنگی (Jurekova *et al*., 2011)، فلفل (Anjum *et al*., 2012)، لوبیا چشم بلبلی (Ardabili *et al*., 2013)، نخودفرنگی (Shinde and Thakur, 2015)، ذرت (Homayouni and Khazarian, 2014)، گندم (Sultan *et al*., 2012) و کلزا (Majidi *et al*., 2015) گزارش شده است. افزایش تجمع پرولین در برگ لوبیا سازوکاری برای تعدیل اسمزی تحت شرایط تنش خشکی معرفی شده است (Siddiqui *et al*., 2015).

افزایش میزان پرولین با افزایش تنش خشکی، به دلیل تغییر متابولیسم نیتروژن در ارتباط با ساخت ترکیب‌هایی مانند پرولین می‌باشد، لذا افزایش غلظت گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک خارجی، به منظور تعدیل اسمزی در سلول موجب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک

رژیم آبیاری	گلایسین بتائین	اسید جیبرلیک (پی پی ام)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم ماده‌تر)
۵۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۰	۰/۴۰۵^{j}	۰/۰۳۶^{ef}	۱/۱۷^{q}
		۶۰	۰/۳۸۳^{k}	۰/۰۳۴^{fg}	۱/۳۱^{p}
		۱۲۰	۰/۳۶۷^{lkm}	۰/۰۲۵^{ij}	۱/۶۳^{o}
	۵۰ میلی‌مولار	۰	۰/۳۷۰^{lk}	۰/۰۳۳^{g}	۱/۵۹^{o}
		۶۰	۰/۳۶۳^{ml}	۰/۰۲۳^{jk}	۱/۷۵^{n}
		۱۲۰	۰/۳۵۷^{ml}	۰/۰۱۸^{mn}	۱/۷۴^{n}
	۱۰۰ میلی‌مولار	۰	۰/۳۵۳^{m}	۰/۰۲۱^{kl}	۱/۷۵^{n}
		۶۰	۰/۳۲۲^{n}	۰/۰۱۹^{ml}	۱/۸۴^{m}
		۱۲۰	۰/۳۰۹^{n}	۰/۰۱۵^{n}	۱/۹۵^{l}
۷۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۰	۰/۵۵۹^{f}	۰/۰۴۵^{b}	۲/۰۸^{k}
		۶۰	۰/۵۲۵^{g}	۰/۰۴۳^{bc}	۲/۱۳^{jk}
		۱۲۰	۰/۵۱۲^{g}	۰/۰۳۹^{de}	۲/۲۱^{i}
	۵۰ میلی‌مولار	۰	۰/۵۲۲^{g}	۰/۰۴۱^{cd}	۲/۱۹^{ij}
		۶۰	۰/۵۱۰^{g}	۰/۰۳۴^{gf}	۲/۳۲^{h}
		۱۲۰	۰/۴۸۰^{ih}	۰/۰۲۸^{h}	۲/۳۶^{gh}
	۱۰۰ میلی‌مولار	۰	۰/۴۸۵^{h}	۰/۰۳۴^{gf}	۲/۳۰^{h}
		۶۰	۰/۴۶۴^{i}	۰/۰۲۷^{ih}	۲/۴۰^{g}
		۱۲۰	۰/۴۲۰^{j}	۰/۰۲۶^{ih}	۲/۴۳^{g}
۹۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۰	۰/۶۵۳^{a}	۰/۰۵۰^{a}	۲/۵۴^{f}
		۶۰	۰/۶۳۰^{b}	۰/۰۴۹^{a}	۲/۶۴^{e}
		۱۲۰	۰/۵۹۵^{cd}	۰/۰۴۵^{b}	۲/۷۶^{d}
	۵۰ میلی‌مولار	۰	۰/۶۰۹^{c}	۰/۰۴۸^{a}	۲/۷۷^{d}
		۶۰	۰/۵۹۹^{c}	۰/۰۴۴^{b}	۲/۹۲^{c}
		۱۲۰	۰/۵۸۳^{de}	۰/۰۳۵^{gf}	۳/۰۰^{b}
	۱۰۰ میلی‌مولار	۰	۰/۵۹۳^{cd}	۰/۰۴۱^{cd}	۲/۹۲^{c}
		۶۰	۰/۵۷۵^{e}	۰/۰۲۸^{h}	۳/۰۴^{b}
		۱۲۰	۰/۵۶۷^{ef}	۰/۰۲۶^{ih}	۳/۱۵^{a}

در هر ستون مقادیر با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ باهم ندارند.

افزایش پـرولین بـه منظور کاهش اثرات تنش خشکی شده است. به نظر می‌رسد که افزایش میزان پرولین به دلیل نقش گلایسین بتائین در تغییر مسیر متابولیسم اسیدهای آمینه به سمت تولید پرولین و یا دیگر اسیدهای آمینه مرتبط با بیوسنتز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

پرولین باشد. درباره افزایش تولید پرولین در گیاه، در اثر مصرف گلایسین بتائین می‌توان به این نکته اشاره کرد که سنتز آمینواسیدهای نظیر پرولین در داخل سلول‌های گیاهی از طریق گلوکز شروع می‌شود که گلایسین در اولین مسیر چرخه از طریق 3-p-glycerate و سرین به وجود آمده، در حالیکه سنتز پرولین در مراحل پایانی چرخه سنتز آمینواسیدها قرار دارد. کاربرد برگی گلایسین بتائین و جذب سلولی آن موجب می‌شود که مسیر سنتز آمینواسیدها به جای سنتز گلایسین بتائین به سمت تولید پرولین و دیگر آمینواسیدها حرکت کند. بررسی‌های مختلف نشان‌دهنده این مطلب است که تمامی گیاهان توانایی تجمع اسمولیت‌های آلی برای کاهش آثار زیان‌بار تنش‌های غیرزنده محیطی را ندارند. البته امکان القای اسمولیت‌های آلی مختلف از جمله گلایسین بتائین به این گیاهان وجود داشته و از این طریق می‌توان اثرات زیان‌بار تنش‌های محیطی را بر گیاهان مذکور کاهش داد (Nawaz and Wang, 2020). از طرف دیگر ثابت شده است که کاربرد اسید جیبرلیک و جذب سلولی آن از طریق تحریک و افزایش تبدیل گلوتامات (آنزیم سنتزکننده پرولین) به پرولین موجب افزایش میزان پرولین درونی گیاه شده و در نتیجه باعث می‌شود که گیاه در برابر تنش خشکی تحمل نشان دهد (Khan *et al.*, 2020). در توافق با نتایج پژوهش حاضر، گزارش شده است که محلول‌پاشی گیاهان برنج (Demiral and Turkan, 2006)، ذرت (میری و ضمانی مقدم، ۱۳۹۳) و گیاه دارویی کارلا (رضایی علولو و همکاران، ۱۳۹۸) با گلایسین بتائین سبب افزایش میزان پرولین گردیده است. افزایش میزان پرولین در گیاه مرزه (فیروزه و همکاران، ۱۳۹۵) با کاربرد اسید جیبرلیک نیز گزارش گردیده است.

مالون دی آلدهید: پراکسیداسیون چربی در برگ‌های گیاهان با اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدهید اندازه‌گیری شده نشان داد که اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک، گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک و رژیم آبیاری × گلایسین بتائین بر میزان مالون دی آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر میزان مالون دی آلدهید نشان داد که تیمار عدم محلول‌پاشی با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بالاترین مقدار مالون دی آلدهید را داشت و کمترین مقدار در تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک مشاهده شد (جدول ٤). همچنین مقایسه میانگین رژیم آبیاری × گلایسین بتائین نشان داد که بیشترین میزان مالون دی آلدهید مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر و عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین و کمترین مقدار مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر و ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین بود (جدول ۵). افزایش و بالا رفتن میزان مالون دی آلدهید در شرایط تنش خشکی نشان‌دهندهٔ تولید مقادیر زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن در این شرایط می‌باشد. پژوهشگران نیز افزایش میزان مالون دی آلدهید در شرایط تنش را گزارش کرده‌اند (مفاخری و همکاران، ۱۳۹۵؛ شادمند و افکاری، ۱۳۹۷؛ Turkan *et al.*, 2005; Zlatev *et al.*, 2006; Yasar *et al.*, 2010; Svetleva *et al.*, 2012). پراکسیداسیون چربی‌های غشا نشان‌دهنده میزان آسیب اکسایشی به بافت‌های گیاهی است و در نهایت منجر به کاهش یکپارچگی غشا می‌شود (Kovalikova *et al.*, 2020)، لذا اغلب از مالون دی آلدهید به عنوان یک معیار برای بیان میزان افزایش آسیب به غشای یاخته‌ای استفاده می‌کنند (Demiral and Turkan, 2005). ثابت شده است که دلیل اصلی آسیب شدید به غشای یاخته‌ای، تولید رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌باشد که در نهایت منجر به پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع غشای یاخته‌ای می‌گردد (Borsani *et al.*, 2001). افزایش نفوذپذیری غشا و کاهش پایداری غشا می‌تواند منجر به افزایش نشت الکترولیت‌ها به فضای بین یاخته‌ای شود.

در این مطالعه تنش خشکی موجب افزایش میزان مالون دی آلدهید گردید، اما کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک موجب کاهش میزان مالون دی آلدهید تحت شرایط تنش خشکی گردید. افزایش غلظت گلایسین بتائین خارجی از طریق افزایش پیش ماده داخلی آن موجب باعث حفظ ثبات و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل دو گانه گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر روی صفات مورد مطالعه در لوبیا چشم بلبلی

گلایسین‌بتائین	اسید جیبرلیک (نانومول بر گرم ماده خشک)	مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم)	آسکوربات پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	گلایسین بتائین (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)	عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار)
۰ میلی‌مولار	۰ پی‌پی‌ام	۱۸/۹٤^{a}	۰/۰۳۱^{a}	۳/۰۷^{e}	۲۵۳^{b}
	٦۰ پی‌پی‌ام	۱۷/۵۳^{ab}	۰/۰۲۹^{ab}	۳/۲٦^{e}	۲٦۸^{ab}
	۱۲۰ پی‌پی‌ام	۱۵/۷٦^{abc}	۰/۰۲۷^{ab}	۳/۹۷^{de}	۲۷۸^{ab}
۵۰ میلی‌مولار	۰ پی‌پی‌ام	۱٦/۳۸^{ab}	۰/۰۲۹^{ab}	٤/۱۲^{cde}	۳۱۳^{ab}
	٦۰ پی‌پی‌ام	۱٤/۵۰^{abc}	۰/۰۲۷^{ab}	٤/۷۹^{bcd}	۳۱۹^{ab}
	۱۲۰ پی‌پی‌ام	۱۳/٦۰^{abc}	۰/۰۲٦^{ab}	۵/۲۷^{ab}	۳۵۷^{ab}
۱۰۰ میلی‌مولار	۰ پی‌پی‌ام	۱۳/۰۸^{abc}	۰/۰۲٦^{ab}	۵/۰۹^{abc}	۳۳۰^{ab}
	٦۰ پی‌پی‌ام	۱۱/۳۹^{bc}	۰/۰۲٤^{ab}	۵/۵۸^{ab}	۳٤٦^{ab}
	۱۲۰ پی‌پی‌ام	۹/۹۱^{c}	۰/۰۲۳^{b}	٦/۰۲^{a}	۳۷۲^{a}

در هر ستون مقادیر با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ باهم ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل دو گانه رژیم آبیاری و گلایسین بتائین بر میزان مالون دی آلدهید در لوبیا چشم بلبلی

رژیم آبیاری	گلایسین‌بتائین (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)	مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
۵۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۹/۷٦^{f}	۱۶۹۷^{bc}
	۵۰ میلی‌مولار	۹/۱۷^{f}	۱۷٦۸^{ab}
	۱۰۰ میلی‌مولار	٦/۸٦^{g}	۱۹۳۸^{a}
۷۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۱۵/۵۲^{d}	۱۰۶۶^{e}
	۵۰ میلی‌مولار	۱۱/۷۳^{e}	۱۵۲۵^{cd}
	۱۰۰ میلی‌مولار	۸/۵۱^{f}	۱۴۹۸^{d}
۹۰ میلی‌متر تبخیر	۰ میلی‌مولار	۲٦/۹۵^{a}	۸۰۷^{f}
	۵۰ میلی‌مولار	۲۳/۵۸^{b}	۱۰۱۰^{e}
	۱۰۰ میلی‌مولار	۱۹/۰۱^{c}	۱۰۴۷^{e}

در هر ستون مقادیر با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ باهم ندارند.

ساختار غشاء و در نهایت منجر به کاهش پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع غشای یاخته‌ای در شرایط تنش خشکی می‌شود (Nawaz and Wang, 2020). مشابه با نتایج این مطالعه در گیاهان ذرت تحت تنش خشکی کابرد گلایسین بتائین با افزایش قدرت سیستم آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، موجب کاهش تنش اکسیداتیو و پراکسداسیون لیپیدها گردید (Lixin *et al.*, 2009; Ali and Ashraf, 2011). در گیاهان توتون تحت تنش شوری نیز کاربرد گلایسین بتائین موجب افزایش قدرت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسداسیون لیپید گردید (Sun *et al.*, 2020). در گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

سورگوم تحت تنش شوری نیز کاربرد گلایسین بتائین آسیب وارد شده به غشاهای سلولی، کلروپلاست و میتوکندری را در سلول‌های مزوفیل برگ کاهش داد و از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرد (Arafa *et al.*, 2007). کاهش میزان مالون دی آلدهید در گندم نان (Iftikhar *et al.*, 2020) با کاربرد اسید جیبرلیک نیز گزارش گردیده است.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: اثر رژیم آبیاری بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی، مقدار فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت، به طوریکه کمترین و بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب متعلق به رژیم آبیاری ۵۰ و ۹۰ میلیمتر تبخیر بود (جدول ٦). از مهمترین تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان در معرض تنش خشکی می‌توان به تولید مولکول‌های اکسیدکننده‌ای اشاره کرد که عامل اصلی خسارت در درون سلول می‌باشند؛ به این ترکیبات گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گویند که باعث خسارت به اندامک‌های سلولی و ماکرومولکول‌ها می‌شوند. ROS ها توانایی تثبیت دی‌اکسید کربن در کلروپلاست و فعالیت‌های تنفسی در میتوکندری را کاهش و باعث افزایش نشت الکترولیت‌ها در سلول می‌شوند. ROSها همچنین با اکسیداسیون آمینواسیدها در پروتئین‌ها و اکسیداسیون کوفاکتور متصل به آن‌ها موجب غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌های خاص می‌شوند؛ به قندها و بازهای سازنده مولکول DNA خسارت وارد کرده و باعث حذف شدن بازها، ایجاد موتاسیون و اثرات مختلف ژنتیکی می‌شوند و نهایتاً با تخریب رنگدانه‌ها و دیگر ماکرومولکول‌های حیاتی گیاه و همچنین خسارت در سیستم فتوسنتزی و تنفس گیاه باعث کاهش عملکرد می‌شوند (Gill and Tuteja, 2010). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداسیونی ایجاد شده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدان (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) می‌باشند (Shawon *et al.*, 2020). تحقیقات مختلف نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداسیونی که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (Sairam and Saxena, 2001). افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش توسط محققان زیادی گزارش شده است (مفاخری و همکاران، ۱۳۹۵؛ کرمی و همکاران، ۱۳۹۸؛ یزدانی بیوکی و همکاران، ۱۳۹۹؛ Lascano *et al.*, 2001) که در توافق با مطالعه حاضر می‌باشد.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت گلایسین بتائین میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز کاهش یافت. به طوریکه بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم مذکور به ترتیب در تیمار عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده گردید (جدول ٦). همچنین کاربرد اسید جیبرلیک نیز باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز گردید. کمترین میزان در تیمار عدم محلول‌پاشی و بیشترین آن در تیمار محلول‌پاشی ۱۲۰ پی‌پی‌ام بدست آمد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر سه گانه رژیم آبیاری × گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک نشان داد که کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر، محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک و بیشترین مقدار مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر و عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بود (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که تیمار عدم محلول‌پاشی با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بالاترین مقدار آسکوربات پراکسیداز را داشت و کمترین مقدار در تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک مشاهده شد (جدول ٤). با توجه به نتایج می‌توان بیان کرد که تیمارهایی که با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک محلول‌پاشی شده‌اند نسبت به گیاهان بدون

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

جدول ٦- مقایسه میانگین اثرات رژیم‌های مختلف آبیاری، غلظت‌های گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر روی صفات مورد مطالعه

تیمار	گایاکول پراکسیداز (واحد بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	آسکوربات پراکسیداز (میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	گلایسین بتائین (میلی‌گرم بر گرم ماده خشک)	اسید جیبرلیک (نانومول بر گرم ماده خشک)	میزان پروتئین (درصد)	عملکرد پروتئین (کیلوگرم در هکتار)	عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)
رژیم آبیاری							
۵۰ میلی‌متر تبخیر	۰/۰۰۷^{c}	۰/۰۱۸^{c}	۳/۲۷^{c}	۵۷۷/٤۲^{a}	۲٤/۲۵^{a}	٤۳۸^{a}	-
۷۰ میلی‌متر تبخیر	۰/۰۱۳^{b}	۰/۰۲۷^{b}	٤/٦۰^{b}	٤٦۷/٦۲^{b}	۲۲/۷۱^{b}	۳۱۰^{b}	-
۹۰ میلی‌متر تبخیر	۰/۰۱۹^{a}	۰/۰۳٦^{a}	۵/۸٦^{a}	٤۳۲/۲۹^{c}	۲۰/٦۵^{c}	۱۹۸^{c}	-
گلایسین‌بتائین							
۰ میلی‌مولار	۰/۰۱۵^{a}	-	-	٤۷۵/٦۱^{c}	۲۱/۹۱^{c}	-	-
۵۰ میلی‌مولار	۰/۰۱۳^{b}	-	-	٤۹٤/۷۰^{b}	۲۲/٦۲^{b}	-	-
۱۰۰ میلی‌مولار	۰/۰۱۱^{c}	-	-	۵۰۷/۰۱^{a}	۲۳/۰۸^{a}	-	-
اسید جیبرلیک							
۰ پی‌پی‌ام	۰/۰۱٤^{a}	-	-	٤۷۹/۵۲^{c}	۲۲/۲۳^{c}	-	۱۳۲۱^{b}
٦۰ پی‌پی‌ام	۰/۰۱۳^{b}	-	-	٤۹۱/۵۷^{b}	۲۲/۵۳^{b}	-	۱۳۵۵^{ab}
۱۲۰ پی‌پی‌ام	۰/۰۱۲^{c}	-	-	۵۰٦/۲٤^{a}	۲۲/۸۵^{a}	-	۱٤٤۳^{a}

در هر ستون مقادیر با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ باهم ندارند.

محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک از میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پایین‌تری برخوردار بودند، به طوری که کاربرد گلایسین بتائین اسید جیبرلیک منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. باتوجه به نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در فرآیند زدودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و دفاع از گیاه در برابر تنش خشکی، به نظر می‌رسد که گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را انجام داده و لذا مقدار تولید این آنزیم‌ها در گیاهان تیمار شده با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک کمتر از گیاهان بدون کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بود.

به نظر می‌رسد که گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک با حفاظت از پروتئین‌های غشاء و کاهش اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشاء به سلامت و پایداری غشاء کمک نموده و باعث کاهش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردیده است. مطالعات سایر محققان نشان داده است که گلایسین بتائین موجب حفظ غشاها از پراکسیداسیون لیپیدی و باعث پایداری و استحکام ساختار و فعالیت آنزیمی و ترکیب‌های پروتئینی شده و در نهایت موجب پایداری دیواره سلولی را مقابل تنش می‌شود (Chen *et al.*, 2000; Nawaz and Ashraf, 2010). همچنین در تحقیقی گزارش شده است که اسید جیبرلیک با تغییر و کاهش فعالیت آنزیم‌های متابولیزه‌کننده H_2O_2، باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی غشا می‌شود و گیاه را در مقابل تنش محافظت می‌کند، که این باعث حفظ سلامت و ثبات غشا تحت شرایط تنش می‌شود (Iftikhar *et al.*, 2020).

گلایسین بتائین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک و گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر میزان گلایسین بتائین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین رژیم‌های مختلف آبیاری نشان داد که کمترین میزان گلایسین بتائین در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر و بیشترین میزان آن متعلق به رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر بود (جدول ۳). در واقع با افزایش سطح خشکی میزان گلایسین بتائین افزایش یافت. تجمع اسمولیت‌های کلیدی مانند گلایسین بتائین در شرایط تنش خشکی می‌تواند منجر به تنظیم اسمزی شود. تجمع اسمولیت‌ها در تنش خشکی می‌تواند علاوه بر کاهش پتانسیل اسمزی سلول و کمک به جذب آب در سلول، می‌تواند ساختار غشاها یا ماکرومولکول‌های زیستی را پایدار نماید. در این مطالعه نیز مقدار گلایسین بتائین در گیاهان تحت تنش خشکی افزایش یافت. همان گونه که ذکر گردید، افزایش مقدار اسمولیت‌ها در شرایط تنش خشکی یکی از مکانیسم‌های مهم تحمل در برابر تنش خشکی می‌باشد (Szabados and Savoure, 2010).

مقایسه میانگین اثر گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر میزان گلایسین بتائین نشان داد که تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک بالاترین مقدار را داشت و کمترین مقادیر در تیمار عدم محلول‌پاشی مشاهده شد (جدول ٤). گزارش‌های مختلف حاکی از این مطلب است که گلایسین بتائین محلول‌پاشی شده روی برگ یا اندام هوایی گیاه، قابلیت انتقال به قسمت‌های مختلف گیاه را دارا می‌باشد و این مطلب هم در مورد گیاهان تجمع دهنده و بیوسنتزکننده گلایسین بتائین و هم در مورد گیاهان غیرتجمع دهنده و فاقد توانایی بیوسنتز گلایسین بتائین صادق است (Lixin *et al.*, 2009; Hassanein *et al.*, 2009). گلایسین بتائین برون‌زا به راحتی می‌تواند داخل برگ‌ها نفوذ نماید و به سایر اندام‌های گیاه منتقل شود و موجب همبستگی غشاها و افزایش مقاومت در برابر تنش‌های مختلف شود (Lixin *et al.*, 2009). افزایش غلظت گلایسین بتائین خارجی از طریق افزایش پیش ماده داخلی آن موجب افزایش گلایسین بتائین شده که در نهایت باعث حفظ ثبات و ساختار غشاء و افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش خشکی می‌شود. در این مطالعه با افزایش غلظت گلایسین بتائین، میزان گلایسین بتائین افزایش یافت که این افزایش به منظور محافظت از غشاها و تحمل گیاهان به تنش خشکی مؤثر می‌باشد.

اسید جیبرلیک: اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر روی اسید جیبرلیک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین رژیم‌های مختلف آبیاری برای صفت اسید جیبرلیک نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش میزان اسید جیبرلیک گردید، به طوریکه کمترین و بیشترین میزان اسید جیبرلیک به ترتیب در رژیم آبیاری ۹۰ و ۵۰ میلیمتر تبخیر بدست آمد (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت گلایسین بتائین میزان اسید جیبرلیک نیز افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان اسید جیبرلیک به ترتیب در تیمار عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). محلول‌پاشی با اسید جیبرلیک نیز میزان اسید جیبرلیک را افزایش داد، به طوریکه بیشترین مقدار در غلظت محلول‌پاشی ۱۲۰ پی‌پی‌ام و کمترین مقدار آن در تیمار عدم محلول‌پاشی مشاهده گردید (جدول ۳). کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی به عنوان راهکاری مؤثر برای بهبود مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان مطرح است. برای کاهش اثرات سوء تنش‌های محیطی از انواع مختلف فیتوهورمون‌ها مانند اسید جیبرلیک استفاده شده است (Khan *et al.*, 2020). اسید جیبرلیک یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان بازی می‌کند و نقش مهمی را در کاهش اثرات سوء تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. اسید جیبرلیک کشش‌پذیری (Plasticity) دیوارهٔ یاخته را افزایش می‌دهد و با تغلیظ شیرهٔ یاخته‌ای از راه آبکافت (هیدرولیز) نشاسته به قند، سبب کاهش پتانسیل آب در یاخته شده و موجب ورود آب بیشتر به درون یاخته و طویل شدن آن می‌شود (Du Toit *et al.*, 2004). همچنین اسید جیبرلیک در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک گیاه وارد شده و موجب اثرگذاری‌های مطلوبی مانند تحریک تقسیم یاخته‌ای و طویل شدن یاخته، انگیزش گل، طویل شدن ساقه، گلدهی یکسان، تحریک توسعهٔ گل، کوتاه کردن زمان کاشت تا گلدهی و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

افزایش اندازه و شمار گل می‌شود (Chang *et al*., 2006). در این مطالعه محلول‌پاشی با اسید جیبرلیک باعث افزایش میزان اسید جیبرلیک درونی گیاه لوبیا چشم بلبلی گردید که نشان دهنده این مطالب است که استعمال خارجی اسید جیبرلیک با افزایش میزان اسید جیبرلیک درونی گیاه می‌تواند باعث بهبود رشد و نمو شده و همچنین می‌تواند باعث کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی در لوبیا چشم بلبلی گردد. برخی محققین نیز کاربرد خارجی هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلین را برای کاهش اثرات منفی تنش بر رشد و نمو گیاهان را مفید گزارش کرده‌اند (Afroz *et al*., 2006; Ghorbani *et al*., 2011; Ali *et al*., 2012; Khan *et al*., 2020). همچنین نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند، محلول‌پاشی اسید جیبرلیک روی گیاه فلفل دلمه‌ای منجر به بهبود رشد گیاه، افزایش سطح برگ، افزایش طول میانگره، افزایش رشد میوه، افزایش کیفیت و کاهش تلفات ناشی از عارضه‌های فیزیولوژیکی می‌شود (Belakbir *et al*., 1998; Georgi *et al*., 2010).

میزان پروتئین: اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر روی میزان پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین رژیم‌های مختلف آبیاری برای صفت میزان پروتئین نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش میزان پروتئین شد، به طوریکه کمترین و بیشترین میزان پروتئین به ترتیب در رژیم آبیاری ۹۰ و ۵۰ میلیمتر تبخیر بدست آمد (جدول ۳). پروتئین بخش قابل ملاحظه‌ای از ذخیره بذر در دانه لوبیا چشم بلبلی را تشکیل می‌دهد، در نتیجه از اهداف اصلی کشت لوبیا تولید پروتئین گیاهی می‌باشد (مجنون حسینی، ۱۳۸۷). در شرایط تنش کم آبی، در اثر بسته شدن نسبی روزنه‌ها، جذب و تثبیت دی‌اکسیدکربن کاهش می‌یابد. بنابراین میزان کلی مواد پرورده برای پر شدن دانه تقلیل می‌گردد. همچنین انتقال مجدد نیتروژن از برگ‌ها به دانه کاهش می‌یابد و این امر سبب کاهش درصد پروتئین می‌شود. در این رابطه دهمرده و همکاران (۱۳۹۷) معتقدند که کمتر بودن درصد پروتئین در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری معمولی می‌تواند به دلیل کاهش طول دوره رشد و نمو در شرایط تنش باشد که موجب کاهش نسبت پروتئین به کربوهیدرات و در نتیجه کاهش درصد پروتئین می‌گردد. همچنین بنظر می‌رسد که کاهش میزان پروتئین تحت شرایط تنش خشکی به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین و نیز تجمع آمینواسیدهای آزاد از جمله پرولین باشد (Kanda *et al*., 2020).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت گلایسین بتائین میزان پروتئین نیز افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان به ترتیب در تیمار عدم محلول‌پاشی و محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳). محلول‌پاشی با اسید جیبرلیک نیز میزان پروتئین را افزایش داد، به طوریکه بیشترین مقدار در غلظت محلول‌پاشی ۱۲۰ پی‌پی‌ام و کمترین مقدار آن در تیمار عدم محلول‌پاشی مشاهده گردید (جدول ۳). در توافق با نتایج پژوهش حاضر، سایر پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک باعث بهبود بهبود میزان پروتئین می‌گردد (سلطانی و همکاران، ۱۳۹۵؛ رضایی علولو و همکاران، ۱۳۹۸، سالک معراجی و حاتمی، ۱۳۹۹؛ Demiral and Turkan, 2006; Hassanein *et al*., 2009; Ali and Ashraf, 2011). ثابت شده است که گلایسین بتائین در پایدارسازی ساختمان پیچ خورده پروتئین‌ها نقش داشته و می‌تواند با برهمکنش مستقیم با فسفاتیدیل کولین خصوصیات ترمودینامیک غشاها را تغییر داده و پروتئین‌ها را علیه نتایج نامطلوب دهیدراته شدن محافظت نماید. علاوه بر این، گلایسین بتائین می‌تواند موجب تغییر در الگوی بیان ژن‌ها شود و الگوی پروتئینی را در گیاه تغییر دهد که نتیجه آن افزایش تحمل در برابر تنش‌ها می‌باشد (Hassanein *et al*., 2009). در کل به نظر می‌رسد که گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک از طریق کاهش اثرات تنش، سبب طولانی شدن دوره رسیدگی شده و به دنبال آن مدت ذخیره پروتئین در دانه‌ها را افزایش داده و در نتیجه درصد پروتئین دانه افزایش یافته است.

عملکرد پروتئین: اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک و گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر روی عملکرد پروتئین معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

رژیم‌های مختلف آبیاری برای صفت عملکرد پروتئین نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش عملکرد پروتئین شد، به طوریکه بیشترین عملکرد پروتئین در شرایط رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر و کمترین مقدار در شرایط رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر مشاهده شد (جدول ۳). از آنجا که عملکرد پروتئین از حاصل ضرب درصد پروتئین و عملکرد دانه حاصل می‌شود، کاهش در عملکرد دانه و درصد پروتئین در شرایط تنش سبب کاهش عملکرد پروتئین در شرایط مذکور می‌گردد. کاهش منبع و فتوسنتز جاری از یک سو و کاهش مقدار انباشت و انتقال مجدد مواد از سویی دیگر، باعث کاهش عملکرد پروتئین تحت شرایط تنش خشکی می‌گردد. کاهش عملکرد پروتئین با افزایش تنش خشکی توسط Habibzadeh and Moosavi (2014) گزارش شده است. امیری ده احمدی و همکاران (۱۳۸۹) نیز گزارش کردند که اثر تنش خشکی بر عملکرد پروتئین معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین اثر گلایسین بتائین × اسید جیبرلیک بر عملکرد پروتئین نشان داد که تیمار محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک بالاترین مقدار را داشت و کمترین مقدار در تیمار عدم محلول‌پاشی مشـاهده شد (جدول ٤). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت با افزایش غلظت محلول‌پاشی با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک، عملکرد پروتئین نیز افزایش یافت. بیشتر بودن عملکرد پروتئین در تیمار محلولپاشی با گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک را می‌توان به افزایش دسترسی به عناصر معدنی به ویژه عناصری همچون نیتروژن و روی تحت تأثیر کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک در گیاه نسبت داد که باعث بهبود رشد گیاه شده و همچنین منجر به افزایش نسبت پروتئین به کربوهیدرات دانه نیز شده است، بنابراین با کاربرد خارجی گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک می‌توان محتوای پروتئین دانه و عملکرد پروتئین را افزایش داد. گزارش شده است که محلول‌پاشی گیاه ذرت (میری و ضمانی مقدم، ۱۳۹۳) و نخود (سالک معراجی و حاتمی، ۱۳۹۹) با گلایسین بتائین سبب افزایش عملکرد گردیده است. افزایش عملکرد در گیاهان ذرت (فرج‌زاده معماری تبریزی و همکاران، ۱۳۹٦)، لوبیای سفید (Abbasi *et al*., 2019) و کلزا (Maleki and Fathi, 2019) با کاربرد اسید جیبرلیک نیز گزارش گردیده است.

عملکرد دانه: اثر رژیم آبیاری، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک و رژیم آبیاری × گلایسین بتائین بر روی عملکرد دانه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک نشان داد که با افزایش غلظت اسید جیبرلیک عملکرد دانه افزایش یافت. به طوریکه بیشترین میزان عملکرد دانه در تیمار محلول‌پاشی ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک مشاهده گردید (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین رژیم آبیاری × گلایسین بتائین نشان داد که بیشترین میزان عملکرد دانه مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۵۰ میلیمتر تبخیر و محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین و کمترین مقدار مربوط به تیمار رژیم آبیاری ۹۰ میلیمتر تبخیر و عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین بود (جدول ۵). بروز تنش خشکی طی مراحل مختلف رشدی به ویژه مرحله زایشی موجب کاهش مواردی از قبیل انتقال مواد حاصل از فتوسنتز جاری به دانه، طول دوره فتوسنتزی، سهم انتقال مجدد مواد ذخیره شده ساقه به دانه و در نهایت کاهش عملکرد دانه می‌گردد. تنش خشکی علاوه بر محدود کردن منبع (کاهش سطح برگ و غیره)، سبب کاهش قدرت مخزن (کاهش تعداد دانه در غلاف و غیره) و ظرفیت ذخیره‌ای می‌شود. محققان علت کاهش عملکرد دانه را با افزایش فواصل آبیاری، کاهش اجزای عملکرد از جمله تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف و وزن دانه در غلاف عنوان کرده‌اند (حسینیان و مجنون حسینی، ۱۳۹٤؛ اژدر افشاری و همکاران، ۱۳۹۵؛ سبزی و همکاران، ۱۳۹٦؛ داودی و همکاران، ۱۳۹۷). از طرفی دیگر گزارش شده است که گلایسین بتائین می‌تواند با حفظ ظرفیت فتوسنتزی و ساختار غشا در برابر تنش خشکی، موجب بهبود عملکرد دانه گردد (Ma *et al*., 2007). ثابت شده است که محلول‌پاشی گیاه ذرت (میری و ضمانی مقدم، ۱۳۹۳) و نخود (سالک معراجی و حاتمی، ۱۳۹۹) با گلایسین بتائین سبب افزایش عملکرد دانه گردیده است. افزایش عملکرد دانه در گیاهان ذرت (فرج‌زاده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

معماری تبریزی و همکاران، ۱۳۹۶)، لوبیای سفید (Abbasi *et al.*, 2019) و کلزا (Maleki and Fathi, 2019) با کاربرد اسید جیبرلیک نیز گزارش گردیده است.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی باعث تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شدیدی در گیاه لوبیا چشم بلبلی می‌گردد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات رژیم آبیاری، گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان اسید جیبرلیک، میزان پروتئین و عملکرد پروتئین کاهش یافتند در حالی که میزان پرولین، مالون دی آلدهید، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلایسین بتائین به طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک در تمامی سطوح تنش خشکی موجب کاهش مالون دی آلدهید، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و افزایش میزان پرولین، گلایسین بتائین، اسید جیبرلیک، میزان پروتئین و عملکرد پروتئین گردید. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد خارجی گلایسین و اسید جیبرلیک با کاهش اثرات سو تنش موجب بهبود رشد لوبیا چشم بلبلی در شرایط تنش خشکی گردید. همچنین نتایج نشان داد که تیمار غلظت‌های ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین‌بتائین و ۱۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک نسبت بـه سایر تیمارها از کارآیی بهتری برخوردار بود. بنظر می‌رسد که گلایسین بتائین و اسید جیبرلیک بر روی یکدیگر اثر تجمعی داشته و کاربرد همزمان و تلفیقی آن‌ها باعث تحمل بیشتر لوبیا چشم بلبلی در برابر تنش خشکی می‌شود.

منابع

اژدر افشاری، م.، شکاری، ف.، افصحی، ک. و عظیم خانی، ر. (۱۳۹۵) تأثیر اثر کاربرد برگی اسید سالیسیلیک بر وزن خشک، شاخص برداشت، عملکرد و اجزای عملکرد لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) تحت تنش کم‌آبی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۹: ۵۸-۵۱.

امیری ده احمدی، س. ر.، پارسا، م.، نظامی، ا. و گنجلی، ع. (۱۳۸۹) تأثیر تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی بر شاخص‌های رشد نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط گلخانه. مجله پژوهش‌های حبوبات ایران ۲: ۸۴-۶۹.

پازکی، ع.، رضایی، ح.، حبیبی، د. و پاک نژاد، ف. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی، محلول پاشی آسکوربات و جیبرلین بر روی برخی صفات موفولوژیکی، محتوی نسبی آب برگ و پایداری غشای سیتوپلاسمی گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.). مجله زراعت و اصلاح‌نباتات ۸: ۱۳-۱.

پورغلام، م.، نصری، م.، قوشچی، ف.، توحیدی مقدم، ح. ر. و لاریجانی. ح .ر. (۱۳۹۸) تأثیر تنش خشکی با کاربرد محلول‌پاشی هورمون و نانو ذرات بر صفات بیوشیمیایی ذرت رقم ماکسیما. فرآیند و کارکرد گیاهی ۳۰: ۳۱۷-۳۲۶.

تقدیسی سیار، م.، انتشاری، ش. و دانشمند، ف. (۱۳۹۵) برهمکنش گلیسین‌بتائین برون‌زا و تنش کم‌آبی روی برخی صفات فیزیولوژیک گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicun esculentum* Mill.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۷: ۱۲۰-۱۰۹.

چهرازی، م.، حسینی، ح. ر.، هاشمی دهکردی، ا. و اسدی‌وفا، خ. (۱۳۹۶) تأثیر اسید جیبرلیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی دو رقم گل سفید و زرد (Alba and Apollo) گل میمون (*Antirrhinum majus*). مجله علوم باغبانی ایران ۴۸: ۱۰-۱.

حسینیان، س. ح. و مجنون حسینی، ن. (۱۳۹۴) بررسی تأثیر قطع آبیاری در مرحله گلدهی بر عملکرد و اجزای عملکرد ژنوتیپ‌های لوبیا چشم بلبلی. نشریه پژوهش‌های حبوبات ایران ۶: ۱۰۸-۹۹.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

داودی، ا.، صادقی‌پور، ا. و توحیدی مقدم، ح. ر. (۱۳۹۷) واکنش لوبیا چشم بلبلی به کاربرد اسید اسکوربیک تحت شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های به‌زراعی ۱۰: ۲۶۳-۲۵۱.

دهمرده، م.، میربهاالدین، م. و خمری، ع. (۱۳۹۷) اثر کاربرد کودهای زیستی بر ویژگی‌های کمی و کیفی لوبیای چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L. Walp) در شرایط تنش خشکی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۱: ۳۳-۲۳.

دیلمی، س. و مجدم، م. (۱۳۹۸) بررسی تأثیر زمان محلول‌پاشی اسیدهیومیک بر خصوصیات کمی و کیفی لوبیاچشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۲: ۹۴-۸۵.

رضایی علولو، ا.، خیری، ع.، ثانی خانی، م. و ارغوانی، م. (۱۳۹۸) اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و گلایسین بتائین بر خصوصیات مرفوفیزیولوژیکی کارلا (*Momordica charantia* L.) تحت تنش کم‌آبی. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۹: ۲۳۵-۲۲۳.

رضایی، م .ع. (۱۳۸۹) اثرات گلیسین بتائین برونزاد بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و عملکرد گیاه سویا (*Glycine max* L.). پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران ۵: ۵۴۷-۴۴.

سالک معراجی، ه. و حاتمی، ا. (۱۳۹۹) تأثیر محلول‌پاشی گلایسین-بتائین و سالیسیلیک اسید بر عملکرد و اجزای عملکرد دو رقم نخود دیم (*Cicer arietinum* L.). نشریه علمی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی ۵۳: ۲۰-۱.

سبزی، س.، طهماسبی، ز. و براری، م. (۱۳۹۶) بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری بر عملکرد دانه و برخی صفات ژنوتیپ‌های لوبیا (Phaseolus vulgaris). تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۰: ۳۰-۲۱.

سلطانی، ا.، خاوری نژاد، ر.، انگجی، س .ع. م. و نجفی، ف. (۱۳۹۵) اثر برهمکنش شوری و اسید جیبرلیک بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم نخود ایرانی (*Cicer arientinum* L.). فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۶: ۱۸۸-۱۷۹.

شادمند، ح. و افکاری، ا. (۱۳۹۷) اثر کاربرد پلیمر سوپرجاذب بر برخی صفات بیوشیمیایی و محتوی نسبی آب ارقام لوبیا تحت تنش خشکی. فصلنامه فیزیولوژی گیاهان زراعی. ۳۹: ۷۷-۶۱.

عباسپور، ح. و رضایی، ا. (۱۳۹۳) اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله پژوهشهای گیاهی ۲۷: ۹۰۳-۸۹۳.

فرج‌زاده معماری تبریزی، ا.، یارنیا، م.، احمدزاده، و. و فرج‌زاده معماری تبریزی، ن. (۱۳۹۶) تأثیر پیش تیمارهای هورمونی مختلف بر میزان رشد و عملکرد دانه ذرت در شرایط سطوح مختلف آبیاری. علوم و تحقیقات بذر ایران ٤: ۳۰-۱۷.

فیروزه، ر.، خاوری نژاد، ر. ع.، نجفی، ف. و سعادتمند، س. (۱۳۹۵) اثر جیبرلین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L.) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۶: ۵۶-٤۵.

قلی‌زاده، ا.، دهقانی، ح. و خدادادی، م. (۱۳۹۸) تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی توده‌های مختلف گشنیز (*Coriandrum sativum* L.). تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۲: ٤۷۰-٤۵۹.

قنبری، م.، مختصی بیدگلی، ع. و طالبی سی‌سیران، پ. (۱۳۹۸) بررسی اثر کودهای زیستی بر عملکرد کمی و تغییرات هورمونی گیاه سویا () تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۲(۳): ۸۱۵-۸۰۵.

کدخدایی، ه.، سودائی‌زاده، ح. و مصلح آرانی، ا. (۱۳۹۳) اثر محلول‌پاشی گلایسین‌بتائین بر روی رشد و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش خشکی در مزرعه. مجله مهندسی اکوسیستم بیابان ۳: ۹۰-۷۹.

کدخدایی، ه.، سودائی‌زاده، ح.، مصلح آرانی، ا. و حکیم‌زاده، م.ع. (۱۳۹۵) بررسی نقش گلایسین‌بتائین در افزایش مقاومت به خشکی گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) در شرایط مزرعه. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۹: ۱٤۷-۱۳۹.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

کرمی، س.، مدرس ثانوی، س. ع.، قناتی، ف.، کشاورز، ح. و پوردهقان، م. (۱۳۹۸) تأثیر محلول‌پاشی روی بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری. علوم گیاهان زراعی ایران ۵۰: ۱۲۸-۱۱۹.

مجنون حسینی، ن. (۱۳۸۷) تولید لگوم‌های دانه. صفحه ۲۸٤، انتشارات جهاد دانشگاهی، تهران.

محمدزمانی، م.، ربیعی، و. و نجاتیان، م. ع. (۱۳۹۱) تأثیر کاربرد پرولین و گلایسین بتائین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی انگور تحت تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران ٤۳: ٤۰۱-۳۹۳.

مفاخری، خ.، بی‌همتا، م. ر. و عباسی، ع. (۱۳۹۵) بررسی فعالیت بعضی از آنزیم‌های پاداکسندگی و پراکسیداسیون چربی‌های غشا در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) در شرایط عادی و تنش خشکی. علوم گیاهان زراعی ایران ٤۷: ۲۳۲-۲۱۷.

مقدم، م.، علیرضایی نقندر، م.، سلاح‌ورزی، ی. و گلدانی، م. (۱۳۹٤) تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیوشیمیایی سه رقم ریحان (*Ocimum basilicum* L.). علوم باغبانی ایران ٤٦: ۵۲۱-۵۰۷.

میری، ح. ر. و ضمانی مقدم، ا. (۱۳۹۳) کاربرد خارجی گلایسین بتائین به منظور کاهش اثرات تنش خشکی در ذرت (*Zea mays* L.). نشریه پژوهشهای زراعی ایران ۱۲: ۷۱۷-۷۰٤.

یزدانی بیوکی، ر.، سودایی‌زاده، ح. و دوست حسینی، م. (۱۳۹۹) ارزیابی رشد و برخی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی سیاه شور (*Suaeda fruticosa*) تحت تنش شوری و گلایسین بتائین. فرآیند و کارکرد گیاهی ۳٦: ۳٦۰-۳٤۵.

Abbasi, A., Maleki, A., Babaei, F., Safari, H. and Rangin, A. (2019) The role of gibberellic acid and zinc sulfate on biochemical performance relate to drought tolerance of white bean under water stress. Cellular and Molecular Biology 65: 1-10.

Afroz, S., Mohammad, F., Hayat, S. and Siddiqui, M. H. (2006) Exogenous application of gibberellic acid counteracts the ill effect of sodium chloride in mustard. Turkish Journal of Biology 29: 233-236.

Agarwal, S. and Pandey, V. (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in Cassia angustifolia. Biologia Plantarum 48: 555-560.

Ali, H. M., Siddiqui, M. H., Basalah, M. O., Al-Whaibi, M. H., Sakran, A. M. and Al-Amri, A. (2012) Effects of gibberellic acid on growth and photosynthetic pigments of Hibiscus sabdariffa L. under salt stress. African Journal of Biotechnology 11: 800-804.

Ali, Q. and Ashraf, M. (2011) Exogenously applied glycinebetaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany 71: 249-259.

Anjum, S. A., Farooq, M., Xie, X. y., Liu, X. j. and Ijaz, M. F. (2012). Antioxidant defense system and proline accumulation enables hot pepper to perform better under drought. Scientia Horticulturae 140: 66-73.

Arafa, A., Khafagy, M. and El-Banna, M. (2007)The Effect of Glycinebetaine or Ascorbic Acid on the Salt-Stress Induced Damages in Sorghum Plant Cells. International Journal of Botany 3: 251-259.

Ardabili, A. A., Sadeghipour, O. and ASL, A. R. (2013) The effect of proline application on drought tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). Advances in Environmental Biology 7: 4689-4696.

Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.

Ashraf, M., Karim, F. and Rasul, E. (2002) Interactive effects of gibberellic acid (GA3) and salt stress on growth, ion accumulation and photosynthetic capacity of two spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. Plant Growth Regulation 36: 49-59.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Belakbir, A., Ruiz, J. and Romero, L. (1998) Yield and fruit quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to bioregulators. HortScience 33: 85-87.

Beyer, W. F. and Fridovich, I. (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry 161: 559-566.

Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. (2001) Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in Arabidopsis seedlings. Plant Physiology 126: 1024-1030.

Carmak, I. and Horst, W. J. (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). Physiologia Plantarum 83: 463-468.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

Chance, B. and Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods Biochem Anal 2: 764-775

Chang, S. T., Chen, W. S., Koshioka, M., Mander, L. N., Huang, K. L. and Du, B. S. (2006) Gibberellins in relation to flowering in Polianthes tuberosa. Physiologia Plantarum 112: 429-432.

Chen, G., Chen, X. and Yue, P. L. (2000) Electrocoagulation and electroflotation of restaurant wastewater. Journal of Environmental Engineering 126: 858-863.

Demiral, T. and Türkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany 53: 247-257.

Demiral, T. and Türkan, I. (2006) Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany. 56: 72-79.

Du Toit, E., Robbertse, P. and Niederwieser, J. (2004) Plant carbohydrate partitioning of Lachenalia cv. Ronina during bulb production. Scientia Horticulturae 102: 433-440.

Georgi, O., Ilias, I. and Anastasia, G. (2010) Comparative study on the effects of various plant growth regulators on growth, quality and physiology of (*Capsicum annuum* L.). Pakistan Journal of Botany 42: 805-814

Ghorbani Javid, M., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Modarres Sanavy, S. A. M. and Allahdadi, I. (2011) The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Australian Journal of Crop Science 5: 726-734.

Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Grieve, C. and Grattan S. (1983) Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant and Soil 70: 303-307.

Habibzadeh, Y., Moosavi, Y. (2014) The effects of water deficit stress on protein yield of mung bean genotypes. Peak Journal of Agricultural Science 2(3): 30-35.

Hassanein, R. A., Hassanein, A. A., Haider, A. S. and Hashem, H. A. (2009) Improving salt tolerance of Zea mays L. plants by presoaking their grains in glycine betaine. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 3: 928-942.

Homayouni, H. and Khazarian, V. (2014) Effects of deficit irrigation on soluble sugars, starch and proline in three corn hybrids. Indian Journal of Scientific Research 7: 910-917.

Iftikhar, A., Rizwan, M., Adrees, M., Ali, S., Ur Rehman, M. Z., Qayyum, M. F. and Hussain, A. (2020) Effect of gibberellic acid on growth, biomass, and antioxidant defense system of wheat (*Triticum aestivum* L.) under cerium oxide nanoparticle stress. Environmental Science and Pollution Research 27: 33809-33820.

Jurekova, Z., Németh-Molnár, K. and Paganová, V. (2011) Physiological responses of six tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars to water stress. Journal of Horticulture and Forestry 3: 294-300.

Kanda, E. K., Senzanje, A., Mabhaudhi, T. and Mubanga, S. C. (2020) Nutritional yield and nutritional water productivity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) under varying irrigation water regimes. Water SA 46: 410-418.

Khan, M. N., Khan, Z., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Zhang, J., Xu, Z., Wu, H. and Hu, L. (2020) Seed priming with gibberellic acid and melatonin in rapeseed: Consequences for improving yield and seed quality under drought and non-stress conditions. Industrial Crops and Products 156: 112850.

Kovalikova, Z., Jiroutova, P., Toman, J., Dobrovolna, D. and Drbohlavova, L. (2020) Physiological Responses of Apple and Cherry In Vitro Culture under Different Levels of Drought Stress. Agronomy 10: 1689.

Lascano, H. R., Antonicelli, G. E., Luna, C. M., Melchiorre, M. N., Gómez, L. D., Racca, R. W., Trippi, V. S. and Casano, L. M. (2001) Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. Functional Plant Biology 28: 1095-1102.

Leite, V. M., Rosolem, C. A. and Rodrigues, J. D. (2003) Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. Scientia Agricola 60: 537-541.

LiXin, Z., ShengXiu, L. and ZongSuo, L. (2009) Differential plant growth and osmotic effects of two maize (*Zea mays* L.) cultivars to exogenous glycinebetaine application under drought stress. Plant Growth Regulation 58: 297-305.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry 193: 265-275.

Ma, X., Wang, Y., Xie, S., Wang, C. and Wang, W. (2007) Glycinebetaine application ameliorates negative effects of drought stress in tobacco. Russian Journal of Plant Physiology 54: 472-479.

Majidi, M., Rashidi, F. and Sharafi, Y. (2015) Physiological traits related to drought tolerance in Brassica. International Journal of Plant Production 9: 541-549.

Maleki, A. and Fathi, A. (2019) Multivariate Statistical Analysis to Yield of Canola under Drought Stress and Spraying of Gibberellin and Salicylic Acid. Journal of Crop Nutrition Science 5: 1-11.

Nawaz, K. and Ashraf, M. (2010) Exogenous application of glycinebetaine modulates activities of antioxidants in maize plants subjected to salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science 196: 28-37.

Nawaz, M. and Wang, Z. (2020) Abscisic Acid and Glycine Betaine Mediated Tolerance Mechanisms under Drought Stress and Recovery in Axonopus compressus: A New Insight. Scientific Reports 10: 1-10.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

Pérez-Clemente, R. M., Vives, V., Zandalinas, S. I., López-Climent, M. F., Muñoz, V. and Gómez-Cadenas, A. (2013) Biotechnological approaches to study plant responses to stress. BioMed Research International 20 :1-10.

Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Mensuali Sodi, A. and Soldatini, G. (2003) Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. Journal of Experimental Botany 54: 2529-2540.

Sairam, R. K. and Saxena, D. C. (2001) Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 184: 55-61.

SAS, Institute. (2011) SAS/STAT. User's guide. (2nd Ed.). SAS institute Inc., Cary, NC.

Scebba, F., Sebastiani, L. and Vitagliano, C. (1998) Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation. Physiologia Plantarum 104: 747-752.

Shawon, R. A., Kang, B. S., Lee, S. G., Kim, S. K., Lee, H. J., Katrich, E., Gorinstein, S. and Ku, Y. G. (2020) Influence of drought stress on bioactive compounds, antioxidant enzymes and glucosinolate contents of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). Food Chemistry 308: 125657.

Shinde, B. and Thakur, J. (2015) Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on chlorophyll, proteins, proline and total carbohydrates content of the pea plant under water stress condition. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 4: 809-821.

Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Whaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., Al-Wahibi, M. S. and Bukhari, N.A. (2015) Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. International Journal of Molecular Sciences 16: 10214-10227.

SPSS, I. (2010) SPSS 19. Users Guied. Chicago, IL., USA

Sultan, M. A. R. F., Hui, L., Yang, L. J. and Xian. Z. H. (2012) Assessment of drought tolerance of some Triticum L. species through physiological indices. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 48: 178-184.

Sun, H., Luo, M., Zhou, X., Zhou, Q., Sun, Y., Ge, W., Wei, B., Cheng, S. and Ji, S. (2020) Exogenous glycine betaine treatment alleviates low temperature-induced pericarp browning of 'Nanguo'pears by regulating antioxidant enzymes and proline metabolism. Food Chemistry 306: 125626.

Svetleva, D., Krastev, V., Dimova, D., Mitrovska, Z., Miteva, D., Parvanova, P. and Chankova, S. (2012) Drought tolerance of Bulgarian common bean genotypes, characterised by some biochemical markers for oxidative stress. Journal of Central European Agriculture 13(2): 349-361.

Szabados, L. and A. Savoure. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science 15: 89-97.

Tewari, T. and Singh, B. (1991) Stress studies in lentil (*Lens esculenta Moench*). Plant and Soil 136: 225-230.

Tisarum, R., Theerawitaya, C., Samphumphung, T., Takabe, T. and Cha-um, S. (2019) Exogenous foliar application of glycine betaine to alleviate water deficit tolerance in two Indica Rice genotypes under greenhouse conditions. Agronomy Journal 9: 1-15.

Turkan, I., Bor, M., Özdemir, F. and Koca, H. (2005) Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant P. acutifolius Gray and drought-sensitive P. vulgaris L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.

Yasar, F., Uzal, O. and Ozpay, T. (2010) Changes of the lipid peroxidation and chlorophyll amount of green bean genotypes under drought stress. African Journal of Agricultural Research 5: 2705-2709.

Zhang, Y. Y., Li, Y., GAO, T., Zhu, H., Wang, D. J., Zhang, H. W., Ning, Y. S., Liu, L. J., Wu, Y. R. and Chu, C. C. (2008) Arabidopsis SDIR1 enhances drought tolerance in crop plants. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 72: 2251-2254.

Zlatev, Z., Lidon, F. Ramalho, J. and Yordanov, I. (2006) Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. Biologia Plantarum 50: 389-394.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]

Evaluation of the effects of glycine betaine and gibberellic acid on antioxidant and biochemical traits of cowpea under drought stress conditions

MirReza Miri, Farshad Ghooshchi*, Hamidreza Tohidi Moghaddam, HamidReza Larijani, Pourang Kasraie

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin branch, Iran.

(Received: 01/11/2020, Accepted: 12/12/2020)

Abstract

Drought is a serious problem for production of crops such as bean which is sensitive to this stress. Therefore, use of management methods to reduce the effects of drought is very important. To evaluate the effects of foliar application of glycine betaine (GB) and gibberellic acid (GA) on qualitative and quantitative characteristics of cowpea under drought stress conditions, a split-plot factorial experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted in Rey City during the 2018 crop year. Experimental factors included irrigation regimes (50, 70 and 90 mm evaporation from Class A evaporation pan) in main plots and glycine betaine (no foliar application, 50 and 100 mM) and gibberellic acid (no foliar application, 60 and 120 ppm) were in factorial form in sub plots. Data were collected on proline, malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, guiacol peroxidase, ascorbate peroxidase, glycine betaine, gebberellic acid, protein content and protein yield. The results of ANOVA indicated that the effects of irrigation regime, glycine betaine and gibberellic acid were significant for all the studied characteristics. Also, the results of comparison of means showed that by increasing drought stress the gebberellic acid value, protein content and protein yield decreased whereas the proline, malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, guiacol peroxidase, ascorbate peroxidase and glycine betaine significantly increased. The exogenous application of glycine betaine and gebberellic acid at all levels of drought stress decreased malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, guiacol peroxidase, ascorbate peroxidase and increased the proline, glycine betaine, gebberellic acid, protein content and protein yield. Generally, the results of this study showed that the exogenous application of glycine betaine and gibberellic acid improved the growth of cowpea by reducing the adverse effects of drought stress. Also, the results showed that concentrations of 100 mM glycine betaine and 120 ppm gibberellic acid were more effective than other levels and induced more water stress tolerance in cowpea

Keywords: Gibberellic acid, Drought stress, Yield, cowpea, Glycine betaine.

Corresponding author, Email: far.ghooshchi@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-05-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.42.14.6]