

تأثیر کیتوزان بر جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) تحت تنش شوری

مهدی عقیقی شاهرودی^{۱*}، حشمت امیدی^۲، سید اسماعیل موسوی^۳

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

^۲ استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و دانشگاه شاهد تهران

^۳ دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: m.aghighi@shahed.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۲۹)

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر کیتوزان بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی ماریتیغال در شرایط تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشگاه شاهد تهران در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح تنش شوری (صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و سطوح مختلف کیتوزان (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد) بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، ضریب جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص وزنی و طولی بنیه بذر، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه و بیوماس کل و افزایش متوسط زمان جوانه‌زنی گردید. پیش‌تیمار بذر با کیتوزان تا غلظت ۰/۵ درصد سبب افزایش صفات ضریب جوانه‌زنی، شاخص وزنی بنیه بذر و طول ساقه‌چه شد. بیشترین میزان کلروفیل کل و پروتئین کل در پیش‌تیمار بذر با سطوح ۰/۵ درصد کیتوزان در شوری صفر دسی‌زیمنس بر متر (شاهد) به دست آمد. با افزایش تنش شوری، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش داشت، به‌طوری‌که بیشترین فعالیت این دو آنزیم در سطح تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در پیش‌تیمار با ۰/۵ درصد کیتوزان به دست آمد. نتایج نشان داد که تیمار بذر با کیتوزان ۰/۵ درصد می‌تواند اثرات مضر تنش شوری را بر برخی صفات در گیاهچه ماریتیغال کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: بنیه بذر، پراکسیداز، پروتئین، خارمریم، کاتالاز، کلروفیل

مقدمه

(فرج‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). ماریتیغال یا خارمریم^۱ گیاهی دارویی، علفی، یک‌ساله و از خانواده کاسنی است که در صنایع داروسازی کاربردهای فراوانی دارد (یزدانی بیوک و همکاران، ۱۳۸۹). تنش شوری یکی از عواملی است که تولید محصولات زراعی را به‌خصوص در مناطق خشک و

در سال‌های اخیر به دلیل عوارض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی و افزایش قیمت آن، گرایش به استفاده از داروهای گیاهی افزایش یافته است؛ بنابراین، توجه به عوامل کاهش‌دهنده رشد و عملکرد گیاهان دارویی و کنترل آن‌ها جهت بهره‌برداری بیشتر از خواص دارویی این گیاهان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است

^۱ *Silybum marianum* L.

جذب بیشتر مواد غذایی از خاک کمک کرده و بنابراین رشد گیاه را تحریک می‌کند (چو^۸ و همکاران، ۲۰۰۸). در پژوهشی در بذره‌های نخود تیمار شده با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد کیتوزان، افزایش طول و وزن خشک ریشه، میزان پرولین و کربوهیدرات‌های کل برگ نسبت به شاهد مشاهده شد. همچنین کیتوزان میزان پتاسیم را در ریشه گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد افزایش، ولی میزان سدیم ریشه را ۷/۱۴ درصد کاهش داد (مهدوی و صفری، ۱۳۹۴). در تحقیق دیگری با افزایش میزان کیتوزان در گیاه ریحان تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان مالون دی‌آلدئید^۹، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز^{۱۰}، سوپر اکسیددیسموتاز^{۱۱} و آسکوربات‌پراکسیداز^{۱۲} نسبت به شاهد به ترتیب ۷۲/۹۶، ۹۲/۲۲، ۹۱/۷۴ و ۹۲/۶۱ درصد افزایش یافت (نادری و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج یافته‌های همین محققین نشان داد که کیتوزان به‌عنوان الیسیاتور زیستی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در مرحله چهارم برگری گیاه زنیان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (نادری و همکاران، ۱۳۹۳).

با توجه به اثرات منفی تنش شوری بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان و همچنین اهمیت گیاه ماریتیغال به‌عنوان یک گیاه دارویی، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر کیتوزان در تعدیل اثرات زیان‌بار تنش شوری در مرحله ابتدایی رشد این گیاه در شرایط آزمایشگاهی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه تأثیر کیتوزان بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر در دانشگاه شاهد در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح مختلف تنش شوری

نیمه‌خشک کاهش می‌دهد (سرنو^۱ و همکاران، ۱۹۹۹). یکی از مراحل حساس گیاه به تنش شوری، مرحله جوانه‌زنی است (کادر و جاتزی^۲، ۲۰۰۴)، زیرا این مرحله برای تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح اهمیت زیادی دارد و تراکم کافی بوته در واحد سطح هنگامی حاصل می‌گردد که بذره‌های کشت‌شده به‌طور کامل و با سرعت کافی جوانه بزنند. همچنین کیفیت مرحله جوانه‌زنی بذر از نظر کمی و کیفی بر عملکرد تولیدی تأثیرگذار است، بنابراین مرحله جوانه‌زنی بذر، مرحله حساس و مهمی است که با استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در فرآیند تولید نقش مهمی را دارد. اگرچه تنش شوری در تمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند رخ دهد اما با توجه به اینکه استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی تأثیر زیادی دارد، تنش شوری در مرحله‌ی گیاهچه‌ای برای گیاه می‌تواند بسیار مضر باشد (رئوف^۳ و همکاران، ۲۰۰۷).

پیش تیمار بذر به‌عنوان یک راهکار جهت افزایش استقرار گیاهچه به‌ویژه در شرایط نامطلوب مطرح است (جودی و شریف‌زاده، ۱۳۸۵). در بسیاری از گیاهان استفاده از محرک‌های زیستی یکی از روش‌های کاهش اثرات مضر تنش‌های غیر زیستی و افزایش عملکرد و کیفیت آن‌ها می‌باشد (گورنیک^۴ و همکاران، ۲۰۰۸). چندین ماده با خاصیت الیسیاتوری^۵ از جمله کیتوزان شناسایی شده است که واکنش به تنش و مکانیسم‌های دفاعی را تحریک می‌کند (کوالسکی^۶ و همکاران، ۲۰۰۶). کیتوزان یک نوع چند قندی است که از واحدهای گلوکز آمین و N-استیل گلوکز آمین (با اتصالات بتا ۱ و ۴) تشکیل شده و یک ماده غیر سمی، زیست تجزیه‌پذیر، زیست سازگار و نیز دارای خواص ضد میکروبی است (کوما^۷ و همکاران، ۲۰۰۲). کیتوزان به‌عنوان یک منبع کربن، ممکن است رشد میکروبی‌های مفید در خاک را تحریک کرده، فرآیند تبدیل مواد آلی به معدنی را افزایش داده و به سیستم ریشه گیاهان در

¹ Serrano

² Kader and Jutzi

³ Rauf

⁴ Gornik

⁵ Elicitors

⁶ Kowalski

⁷ Coma

⁸ Cho

⁹ MDA

¹⁰ CAT

¹¹ SOD

¹² APX

(۱۹۸۴) و بنیه بذر از رابطه ۶ (ایستا، ۲۰۱۰) استفاده شد.

$$GP = (n/N) \times 100 \quad \text{[رابطه ۱]}$$

GP درصد جوانه‌زنی، n تعداد بذر جوانه‌زده، N تعداد کل بذر کشت شده

$$GR = \sum_{i=1}^n \frac{ni}{di} \quad \text{[رابطه ۲]}$$

ni تعداد بذره‌های جوانه‌زده در هر شمارش، di تعداد روز تا شمارش

$$MDG = \frac{PG}{Tx} \quad \text{[رابطه ۳]}$$

PG درصد جوانه‌زنی، Tx تعداد روزهای آزمایش

$$MGT = \frac{\sum_{i=1}^n nidi}{\sum_{i=1}^n ni} \quad \text{[رابطه ۴]}$$

MGT میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی، ni تعداد بذر جوانه‌زده در هر شمارش، di تعداد روز تا شمارش

$$GC = \frac{1}{MGT} \times 100 \quad \text{[رابطه ۵]}$$

MGT میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

[رابطه ۶]

درصد جوانه‌زنی × طول یا وزن = شاخص طولی یا وزنی بنیه بذر

اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل از روش آرنون^۷ آرنون^۷ (۱۹۶۷) استفاده شد. بر طبق این روش ۰/۲۵ گرم گیاهچه ماریتیغال (برداشت‌شده در انتهای آزمایش رشد گیاهچه‌ای در داخل ظرف پتری) در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور در ۵ دقیقه) (مدل Sigma 3-30K) جذب محلول رویی را در طول موج‌های ۶۴۳ و ۶۴۶ با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (مدل Lambda 25) قرائت شد. با روابط زیر میزان کلروفیل کل محاسبه گردید.

$$Chl a = (12.25 \times A_{663} - 2.79 \times A_{649})$$

$$Chl b = (21.21 A_{646} - 5.1 A_{663})$$

$$Chl Total = Chl a + Chl b$$

⁷ Arnon

(صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و سطوح مختلف کیتوزان [صفر (پیش تیمار با آب مقطر)، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد] بودند. به‌منظور تیمار بذره‌های ماریتیغال با کیتوزان، ابتدا بذرها با استفاده از محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و سپس در غلظت‌های مختلف محلول‌های کیتوزان (تهیه محلول‌های کیتوزان با غلظت‌های موردنظر با اسید استیک یک درصد صورت گرفت) و آب مقطر (برای تیمار شاهد) به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند (نادری و همکاران، ۱۳۹۳).

تعداد ۴۰ عدد بذر در هر پتری‌دیش بر روی کاغذ صافی قرار داده شد و تنش شوری در سطوح مختلف با استفاده از کلرید سدیم اعمال گردید. پتری‌دیش‌ها به مدت ۱۰ روز در ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در پایان هر ۲۴ ساعت تعداد بذره‌های جوانه‌زده شمارش شدند (معصومی زورایان و همکاران، ۱۳۹۴). به‌هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی می‌شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها از ۲ میلی‌متر بیشتر باشد (مایلر و چاپمن^۱، ۱۹۷۸). در پایان روز دهم دهم پس از شمارش تعداد بذره‌های جوانه‌زده، از هر پتری‌دیش ۵ عدد گیاهچه به‌صورت تصادفی انتخاب و طول گیاهچه، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه با استفاده از خط‌کش مدرج و وزن خشک گیاهچه (خشک‌کردن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (اکرمیان و همکاران، ۱۳۸۶). برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ (ایستا، ۲۰۱۰)، سرعت جوانه‌زنی (GR) از رابطه ۲ (پاگتر^۳ و همکاران، ۲۰۰۵)، میانگین جوانه‌زنی روزانه از رابطه ۳ (هوگن‌بوم و پترسون^۴، ۱۹۸۷)، میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی (MGT) از رابطه ۴ (الیس و رابرتز^۵، ۱۹۸۱)، ضریب جوانه‌زنی (GC) نیز از رابطه ۵ (اسکات^۶ و همکاران،

¹ Miller and Chapman,

² ISTA

³ Pagter

⁴ Hoogenboom and Peterson

⁵ Ellis and Roberts

⁶ Scott

در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. برای تبدیل کاتالاز، عدد به دست آمده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب شده و بر ۳۹/۲ تقسیم شد، سپس عدد حاصل در ۲ ضرب شد. نهایت میزان فعالیت آنزیم براساس تغییرات جذب به میلیگرم پروتئین در دقیقه بیان شد. تجزیه‌ی داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲^۴ و مقایسه‌ی تیمارهای مورد ارزیابی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح تنش شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود اما کیتوزان اثر معنی‌داری بر این صفات نداشت (جدول ۱). بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار شاهد (عدم شوری) مشاهده شد (جدول ۲). از تأثیر سطوح تنش شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی مشخص شد که تا تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری بین سطوح وجود ندارد و فقط سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). نتایج این آزمایش حاکی از مقاومت مطلوب ماریتیغال از حیث درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به تنش شوری است. یزدانی‌بیوک و همکاران (۱۳۸۹) ذکر کردند که ویژگی‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی ماریتیغال دارای مقاومت بالایی به شوری می‌باشد. در آزمایشی دیگر با بررسی ۹ سطح تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر جوانه‌زنی ماریتیغال گزارش شد که اثر تنش شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود و حداکثر درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار تنش شوری مشاهده گردید که نشان‌دهنده‌ی این مطلب است که احتمالاً این گیاه تحمل بالایی نسبت به شوری دارد (امیدیان و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج یافته‌های فوق نشان می‌دهند که ماریتیغال مقاومت مطلوبی به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی دارد که نتایج این آزمایش با آن‌ها همخوانی داشت.

برای تعیین مقدار کل پروتئین محلول از روش برادفورد^۱ (۱۹۷۶) استفاده شد. مبنای این روش بر اساس اتصال رنگ کوماکسی بریانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین، ۲۰ میلی‌لیتر عصاره استخراج‌شده را در ۸۰ میکرولیتر بافر استخراج رقیق کرده و ۵ میلی‌لیتر معرف کوماکسی بریانت بلو تازه به آن افزوده و ۲ دقیقه به هم زده شد و پس از ۵ دقیقه، میزان جذب تابش آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر اسپکتروفوتومتر قرائت گردید و با استفاده منحنی استاندارد تهیه‌شده با سرم آلبومین گاوی میزان پروتئین در نمونه محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری میزان آنزیم پراکسیداز از روش مک‌آدام^۲ و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گواپیکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. برای اندازه‌گیری، ۳۳ میکرومول از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گواپیکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) بود، مخلوط کرده و جذب آن به مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۳۹ میلی‌لیتر پتاسیم مونوفسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۶۱ میلی‌لیتر پتاسیم دی‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد. برای به دست آوردن میزان پراکسیداز و گزارش آن، عدد قرائت‌شده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب شده و بر ۲۶/۶ تقسیم شد، سپس عدد حاصل در ۲ ضرب گردید. در نهایت میزان فعالیت آنزیم براساس تغییرات جذب به میلیگرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

برای اندازه‌گیری میزان غلظت آنزیم کاتالاز از روش دهیندزا^۳ و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن بود مخلوط گردید. سپس جذب آن

¹ Bradford

² Mac-Adam

³ Dhindsa

⁴ SAS 9.2

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاه دارویی ماریتیغال تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی	متوسط زمان جوانه‌زنی	ضریب جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	میانگین مربعات					
						شاخص وزنی بنیه بذر	شاخص طولی بنیه بذر	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه		
کیتوزان (K)	۴	۳۰/۷۲ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۲۴۱/۸۴ [*]	۰/۰۸ ^{ns}	۲۴۸/۲۵ [*]	۲۴۱۹۴۷ ^{ns}	۱/۸۴ ^{ns}	۱/۶۷ [*]	۱/۸۲ ^{ns}	۷۴۹/۳۵ ^{ns}
شوری (S)	۳	۱۹۴/۸۳ [*]	۰/۰۹ ^{**}	۷۹۱/۷ ^{**}	۰/۴۳ ^{**}	۴۶۴/۴۱ ^{**}	۲۴۳۰۳۱۹۱ ^{**}	۱۱۹/۹ ^{**}	۱۹/۸۳ ^{**}	۲۰۸/۴۲ ^{**}	۳۶۹۱/۹ [*]
K×S	۱۲	۴۹/۶۸ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۱۶۷/۴ ^{ns}	۰/۰۸ ^{ns}	۵۸/۹۵ ^{ns}	۶۳۶۹۵۴ ^{ns}	۲/۳۷ ^{ns}	۰/۳۲ ^{ns}	۲/۶۴ ^{ns}	۶۲۶/۴۲ ^{ns}
اشتباه آزمایشی	۴۰	۶۳/۷۵	۰/۰۱	۸۹/۵۲	۰/۰۸	۹۹/۰۸	۶۸۸۱۵۴	۴/۷۹	۰/۴۷	۵/۹۸	۱۰۴۰/۸۵
ضریب تغییرات (درصد)	۹/۲۳	۱۰/۰۰	۹/۶۱	۵/۶۱	۲۰/۰۹	۱۸/۵۴	۲۰/۳۵	۲۱/۶۱	۲۳/۴۹	۵/۱۴	۵/۱۴

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی ماریتیغال

سطوح شوری (دسی)	درصد جوانه‌زنی	متوسط زمان جوانه‌زنی (روز)	ضریب جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز)	شاخص وزنی بنیه بذر	شاخص طولی بنیه بذر	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)	طول گیاهچه (سانتی‌متر)	بیوماس کل (میلی‌گرم)
صفر (شاهد)	۹۰/۶۶a	۰/۹۵c	۱۰۵/۴۱a	۵/۲۷a	۵۶/۰۳a	۱۳۹۸۴۴a	۱۰/۹۳a	۳/۹۵a	۱۴/۶۸a	۶۳۰/۸۹a
۴	۸۴/۶۶ab	۰/۹۹bc	۱۰۲/۶۴ab	۵/۱۱a	۵۱/۳۲ab	۱۰۴۷۰۸b	۷/۴۲b	۴/۴۷a	۱۱/۸۹b	۶۴۶/۶۷a
۸	۸۸/۰۰ab	۱/۰۴b	۹۶/۳۴b	۵/۰۶ab	۴۸/۰۰bc	۷۸۱۲۸c	۶/۳۴b	۲/۷۳b	۹/۰۷c	۶۱۹/۰۷b
۱۲	۸۲/۵۰b	۱/۱۳a	۸۹/۰۸c	۴/۸۶b	۴۲/۸۱c	۴۴۹۰۸d	۴/۱۵c	۱/۸۴c	۶/۰۰d	۶۱۰/۴۶b

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

بایبوردی و طباطبایی^۱ (۲۰۰۹) بیان داشتند که کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری با کاهش جذب آب توسط بذر در مرحله‌ی آبیگری و تورژسانس در ارتباط است.

میانگین مدت زمان جوانه‌زنی

نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری بر میانگین زمان جوانه‌زنی معنی‌دار بود اما کیتوزان اثر معنی‌داری بر این صفات نشان نداد (جدول ۱). با افزایش غلظت شوری، میانگین زمان جوانه‌زنی افزایش یافت، به طوری که بیشترین مقدار مربوط سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۱/۱۳ روز) بود که با بقیه سطوح شوری تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲).

یافته‌های سایر محققان نیز حاکی از آن است که میانگین زمان جوانه‌زنی در گیاه ذرت به طور معنی‌داری در شرایط تنش شوری افزایش یافت (دانشمند و همکاران، ۱۳۹۱). در آزمایش دیگری اثر تنش شوری کلرید سدیمی بر میانگین مدت‌زمان جوانه‌زنی معنی‌دار گزارش شد، به طوری که کمترین میزان جوانه‌زنی مربوط به سطوح شاهد (صفر) و ۶۲/۲ میلی‌مولار و بیشترین میزان آن مربوط به سطح شوری ۲۴۸/۸ میلی‌مولار بوده است (فتحی امیرخیز و همکاران، ۱۳۹۱).

بذرهای برای آغاز فعالیت‌های خود و شروع جوانه‌زنی نیاز به آب کافی دارند. اگر بذر نتواند به اندازه‌ی کافی آب جذب کند یا جذب آب به‌کندی صورت گیرد، فعالیت‌های داخل بذر نیز به‌کندی صورت گرفته و مدت‌زمان لازم برای خروج ریشه نیز افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد در جوانه‌زنی تحت تنش شوری و خشکی به

¹ Bybordi and Tabatabaei

دلیل افت پتانسیل اسمزی، جذب آب مختل شده و در ادامه نیز از فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز جلوگیری می‌شود (افضل^۱، ۲۰۰۵).

ضریب جوانه‌زنی

تأثیر کیتوزان و تنش شوری بر ضریب جوانه‌زنی به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان تغییرات ضریب جوانه‌زنی تحت تیمارهای کیتوزان به‌گونه‌ای بود که در سطح ۰/۵ درصد در بیشترین مقدار خود بود (۱۰۵/۹۸) که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۳). تأثیر شوری بر ضریب جوانه‌زنی نیز طوری بود که در تیمار شاهد (عدم شوری) بیشترین میزان به دست آمد (۱۰۵/۴۱) که با تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در مطالعه‌ای اثر تنش شوری بر بنیه بذر و خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی سیاه‌دانه^۲ بررسی شد و بیشترین مقدار ضریب جوانه‌زنی در تیمار شاهد (عدم تنش) مشاهده شد و با افزایش مقدار شوری ضریب جوانه‌زنی کاهش یافت (فتحی امیرخیز و همکاران، ۱۳۹۱). محققان در نتیجه‌ی آزمایشی گزارش کردند که کیتوزان در غلظت‌های پایین می‌تواند جوانه‌زنی بذر سویا را افزایش دهد در حالی که غلظت‌های بالای آن ممکن است برای بذر سمی باشد (کاکرجا^۳ و همکاران، ۲۰۰۵). مشخص شده است که غلظت‌های بالای کیتوزان به علت پوشش چسبنده‌ای که روی قسمت بیرونی بذر گیاهان ایجاد می‌کند، ممکن است سبب جلوگیری از جذب آب توسط بذر شود (بونلرتنیرن^۴ و همکاران، ۲۰۰۷).

با افزایش سطوح تنش شوری، میزان شاخص وزنی بنیه بذر کاهش یافت، به‌طوری که بیشترین میانگین این شاخص در تیمار شاهد (عدم شوری) به دست آمد (۵۶/۰۳) و همچنین کمترین میانگین آن در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود (۴۲/۸۱) (جدول ۲). در بین سطوح مختلف کیتوزان بیشترین مقدار شاخص وزنی بنیه بذر مربوط به سطح کیتوزان ۰/۵ درصد بود (۵۷/۱۹) و کمترین مقدار آن در تیمار ۰/۷۵ درصد کیتوزان به دست آمد (جدول ۳). این موضوع بیانگر آن بود که افزایش میزان کیتوزان تا حدودی مفید واقع شده بود و افزایش بیشتر آن تأثیر مثبتی نداشت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری بر صفت شاخص طولی بنیه بذر معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطح شوری از میزان شاخص طولی بنیه بذر کاسته شد. به‌طوری که بیشترین مقدار مربوط به این صفت در تیمار شاهد (عدم شوری) به دست آمد (۱۳۹۸/۴۴) (جدول ۲).

طول ریشه‌چه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش شوری بر طول ریشه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۱). طول ریشه‌چه در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) بیشترین میانگین را داشت (۱۰/۹۳ سانتی‌متر) و با افزایش میزان تنش شوری این میانگین کاهش نشان داد، به‌طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به دست آمد (۴/۱۵ سانتی‌متر) (جدول ۲).

جدول ۳- مقایسه تأثیر سطوح مختلف کیتوزان بر میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی ماریتیغال

سطوح کیتوزان (درصد)	ضریب جوانه‌زنی	شاخص وزنی بنیه بذر	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)
صفر (شاهد)	۹۸/۹۳ ab	۵۰/۲۱ ab	۳/۸۱ a
۰/۲۵	۹۵/۷۲ b	۴۶/۹۱ b	۲/۸۵ b
۰/۵	۱۰۵/۹۸ a	۵۷/۱۹ a	۳/۲۸ ab
۰/۷۵	۹۵/۸۰ b	۴۶/۱۱ b	۳/۰۴ b
۱	۹۵/۴۲ b	۴۷/۲۸ b	۳/۰۱ b

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

شاخص وزنی و طولی بنیه بذر

نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر کیتوزان و تنش شوری بر شاخص وزنی بنیه بذر به ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

¹ Afzal
² *Nigella sativa* L.
³ Kukreja
⁴ Boonlertnirun

سانتی‌متر در پتانسیل اسمزی ۱/۵- مگاپاسکال رسید (مصطفوی و حیدریان، ۱۳۹۱).

طول گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری بر صفت طول گیاهچه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). طول گیاهچه در تیمار شاهد (عدم تنش شوری) در مقایسه با سایر تیمارها، در بیشترین میزان خود بود (۱۴/۶۸ سانتی‌متر) و با افزایش تنش شوری، طول گیاهچه کاهش نشان داد (جدول ۲). از این مطلب می‌توان نتیجه گرفت که طول گیاهچه در گیاه ماریتیغال به‌شدت تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد. فلاحی و همکاران (۱۳۸۷) در بررسی روی گیاه دارویی مریم‌گلی و احتشام‌نیا (۱۳۸۵) در پژوهش روی ده گیاه دارویی گزارش کردند که با افزایش سطح تنش شوری، طول گیاهچه کاهش می‌یابد.

بیوماس کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری بر بیوماس کل معنی‌دار بود (جدول ۱). با افزایش سطح تنش شوری از شاهد (عدم تنش شوری) تا سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر، میزان بیوماس کل افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود رسید (۶۳/۸۹ میلی‌گرم به ازای هر گیاهچه) (جدول ۲). با توجه به نتایج آزمایش چنین استدلال می‌شود که برای تولید بیوماس زیاد در گیاه ماریتیغال مقداری اندکی نمک موردنیاز است. در آزمایشی با افزایش سطح تنش شوری، میزان بیوماس کل در گیاهچه گندم کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان بیوماس در سطح شاهد (عدم تنش) و کمترین میزان آن در بالاترین سطح تنش شوری به دست آمد (زادوریان و همکاران، ۱۳۹۰). در مطالعه‌ای دیگر روی گیاه برنج گزارش شد که بیشترین میزان بیوماس کل مربوط به تیمار شاهد بود که با سطح شوری ۴ میلی‌موس بر سانتی‌متر تفاوت معنی‌داری نداشت (محمدزاده و همکاران، ۱۳۸۹).

با توجه به نتایج آزمایش، طول ریشه‌چه نسبت به طول ساقه‌چه حساسیت بیشتری نسبت به تنش شوری نشان داد. محققین با بررسی اثر تنش شوری بر طول ریشه‌چه یازده رقم پنبه نشان دادند که این تنش باعث کاهش طول ریشه‌چه می‌شود و این صفت نسبت به طول ساقه‌چه تأثیرپذیری بیشتری دارد و نتیجه گرفتند که ریشه‌چه حساس‌ترین قسمت گیاه نسبت به تنش شوری است (نور و خان^۱، ۱۹۹۵). همچنین ذکر شد که تحت تنش شوری، عملکرد هورمون سیتوکینین در ریشه‌چه متوقف می‌شود (نور و خان، ۱۹۹۵). در پژوهشی دیگر کاهش طول ریشه‌چه با افزایش تنش شوری توسط ییلدیریم و گونج^۲ (۲۰۰۶) در فلفل گزارش شد. همچنین در تحقیقی دیگر کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در نخودفرنگی تحت تنش شوری گزارش شد (اکسو^۳ و همکاران، ۲۰۰۵).

طول ساقه‌چه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش شوری و کیتوزان بر صفت طول ساقه‌چه به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تا سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری، میانگین طول ساقه‌چه تغییر معنی‌داری نداشت و کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه بعد از این سطح تنش شوری اتفاق افتاد (جدول ۲). این مطلب بیانگر آن است که صفت طول ساقه‌چه تا حدودی می‌تواند شوری را تحمل کند. تأثیر کیتوزان نیز به‌گونه‌ای بود که در تیمار شاهد (عدم استفاده از کیتوزان)، طول ساقه‌چه بیشترین میانگین را داشت (۳/۸۱ سانتی‌متر) که با تیمار ۰/۵ درصد کیتوزان تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳). با توجه به نتایج آزمایش می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از کیتوزان برای تعدیل اثر شوری روی صفت طول گیاهچه بی‌تأثیر بوده است. در آزمایشی بر روی گیاه آفتابگردان با افزایش تنش شوری، طول ساقه‌چه به‌شدت کاهش یافت به‌طوری‌که طول ساقه‌چه از ۴/۱۹ سانتی‌متر به ۲

¹ Noor and Khan

² Yildirim and Guvenc

³ Oksu

کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری، کیتوزان و همچنین اثر متقابل شوری در کیتوزان بر میزان کلروفیل کل گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش شوری از میزان کلروفیل کل گیاهچه ماریتیغال کاسته شد و تأثیر کیتوزان برای تعدیل اثر شوری به‌گونه‌ای بود که تا حدودی افزایش غلظت آن مؤثر بود، ولی افزایش بیش از حد آن باعث کاهش میزان کلروفیل کل در این گیاه گردید (جدول ۵). به‌طوری که در این آزمایش بیشترین مقدار کلروفیل کل گیاهچه در سطح شاهد (عدم تنش شوری) و غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان به دست آمد (۶۶/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) که با سطح تنش شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در مطالعه‌ای که اثر کیتوزان روی گیاه بادرنجبویه بررسی شد محققان گزارش کردند که میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید تحت تأثیر کیتوزان افزایش می‌یابد (خواجه و نادری^۱، ۲۰۱۴). همچنین در پژوهشی دیگر با بررسی اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر گیاه زنبان^۲ مشخص شد که کیتوزان باعث افزایش در میزان کلروفیل a و b در این گیاه می‌شود (نادری و همکاران، ۱۳۹۳). کیتوزان با فعال کردن و افزایش بیان ژن‌ها در مسیر بیوسنتزی تولید کلروفیل به‌خوبی عمل کرده و میزان کلروفیل را افزایش می‌دهد (امامی‌بیستگانی و همکاران، ۱۳۹۴). جوادی‌پور و همکاران (۱۳۹۲) در ارزیابی کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری گزارش کردند که شوری باعث کاهش کلروفیل در همه ارقام گردید.

پروتئین کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهم‌کنش شوری در کیتوزان بر میزان پروتئین کل معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین بیانگر این بود که با افزایش سطح تنش شوری از میزان پروتئین کل کاسته

شد به‌طوری که بیشترین مقدار در تیمار شاهد (عدم شوری) مشاهده گردید. تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان برای مقابله با اثر تنش شوری بر این صفت نیز به‌گونه‌ای بود که در همه‌ی سطوح تنش شوری، افزایش غلظت کیتوزان تا سطح ۰/۵ درصد، موجب افزایش میزان پروتئین کل گردید و در غلظت‌های بالاتر منجر به کاهش مقدار این صفت شد (جدول ۵). فضائی و بشارتی (۱۳۹۱) با بررسی اثر شوری بر پروتئین کل یونجه گزارش کردند که با افزایش شدت تنش شوری غلظت پروتئین یونجه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در پژوهشی دیگر محققان گزارش کردند شوری موجب کاهش پروتئین کل در چند گونه از شنبلیله گردید (صراحی نوبر و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه‌ای اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان (صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد) بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش کم‌آبی بررسی شد و گزارش گردید که تنش کم‌آبی غلظت پروتئین را کاهش می‌دهد، در حالی که پیش تیمار بذر با غلظت پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد) سبب افزایش آن گردید (مهدوی و همکاران، ۱۳۹۲). کاهش میزان پروتئین در شرایط تنش شوری را می‌توان هم به تخریب پروتئین و هم کاهش سنتز آن نسبت داد (جیانگ و رن^۳، ۲۰۰۳).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری، کیتوزان و اثر متقابل شوری در کیتوزان بر غلظت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه ماریتیغال معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش تنش شوری، غلظت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافتند. در بین غلظت‌های مختلف کیتوزان نیز بیشترین مقدار این آنزیم‌ها در غلظت ۰/۵ درصد به دست آمد. همچنین در شرایط بدون تنش (عدم شوری) میزان این آنزیم‌ها در غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان نسبت به سایر سطوح شوری اما با همین غلظت کیتوزان در کمترین میزان بود و تفاوت معنی‌داری با آن‌ها داشت (جدول ۵).

¹ Khajeh and Naderi

² *Trachyspermum ammi* L.

³ Jiang and Ren

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف کیتوزان بر صفات بیوشیمیایی گیاه دارویی ماریتیغال تحت تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		کلروفیل کل	پروتئین کل	کاتالاز
کیتوزان (K)	۴	۲۱/۳۷*	۱/۸۴*	۶۳۲۵/۱۱**
شوری (S)	۳	۲۴/۲۵**	۲/۷۵**	۶۱۵۲۱۵**
K×S	۱۲	۲۳/۳۷**	۰/۱۰**	۲۵۱۵۳/۳**
اشتباه آزمایشی	۴۰	۸/۱۵	۰/۰۰۲	۱۶۴۷/۵۱
ضریب تغییرات (درصد)		۱۵/۵۰	۹/۹۷	۷/۶۱
				۹/۵۴

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تأثیر سطوح مختلف کیتوزان در تنش شوری بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی ماریتیغال

پراکسیداز $\Delta A \text{ mg.pro}^{-1} \text{ min}^{-1}$	کاتالاز $\Delta A \text{ mg.pro}^{-1} \text{ min}^{-1}$	پروتئین کل $\text{mg.gr}^{-1} \text{ FW}$	کلروفیل کل $\text{mg.gr}^{-1} \text{ FW}$	سطوح کیتوزان (درصد)	سطوح شوری (دسی زیمنس بر متر)
۱۷۰/۵ g	۲۲۰/۵ e	۰/۸۸ b	۲۳/۱۲ ef	صفر (شاهد)	
۳۵۰/۳ e	۳۱۵/۰ d	۰/۹۲ ab	۳۱/۵۵ d	۰/۲۵	
۴۴۰/۸ bc	۳۸۵/۶ cd	۰/۹۵ a	۶۶/۴۱ a	۰/۵	صفر (شاهد)
۳۳۰/۵ e	۳۱۸/۷ d	۰/۹۱ ab	۴۲/۵۰ c	۰/۷۵	
۲۰۰/۰ fg	۲۱۱/۴ e	۰/۸۹ b	۳۰/۱۱ de	۱	
۲۵۰/۵ f	۲۹۵/۶ e	۰/۷۵ d	۱۸/۵۵ f	صفر (شاهد)	
۴۱۵/۸ cd	۴۲۹/۰ c	۰/۸۳ c	۲۸/۳۱ de	۰/۲۵	
۴۹۸/۵ b	۵۰۲/۳ abc	۰/۸۷ bc	۶۲/۸۹ ab	۰/۵	۴
۳۸۷/۰ d	۴۴۹/۷ c	۰/۸۰ cd	۳۶/۴۸ cd	۰/۷۵	
۲۵۱/۳ f	۳۱۰/۵ d	۰/۷۷ d	۲۵/۹۰ e	۱	
۲۹۵/۵ ef	۳۴۲/۵ d	۰/۶۷ ef	۱۵/۱۲ f	صفر (شاهد)	
۴۴۹/۶ bc	۴۸۷/۱ bc	۰/۷۵ d	۲۶/۲۵ e	۰/۲۵	
۵۴۱/۱ ab	۵۵۵/۵ a	۰/۸۱ cd	۵۵/۴۸ b	۰/۵	۸
۴۳۹/۶ bc	۵۰۰/۳ abc	۰/۷۲ de	۳۲/۳۰ d	۰/۷۵	
۳۰۰/۹ef	۳۴۹/۰ d	۰/۶۹ def	۲۱/۵۰ ef	۱	
۳۲۰/۲ e	۳۶۸/۶ d	۰/۵۱ f	۱۲/۱۵ g	صفر (شاهد)	
۴۷۶/۶ bc	۵۰۹/۰ ab	۰/۶۷ ef	۲۳/۹۰ ef	۰/۲۵	
۵۸۰/۹ a	۵۷۵/۲ a	۰/۷۳ de	۵۲/۵۰ b	۰/۵	۱۲
۴۷۱/۵ bc	۵۱۳/۵ ab	۰/۶۴ ef	۲۹/۷۰ de	۰/۷۵	
۳۳۰/۰ e	۳۷۳/۰ d	۰/۵۹ f	۱۸/۱۵ f	۱	

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD ($P < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارد.

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را در دو گونه ذرت افزایش داد (گان^۱ و همکاران، ۲۰۰۹).

در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، میزان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌های بذرهای تیمار شده با ۰/۵ درصد کیتوزان در بیشترین مقدار خود بودند و با همین غلظت کیتوزان در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۵). محققان در آزمایشی گزارش کردند که کیتوزان

^۱ Guan

نتیجه‌گیری

تنش شوری بیشتر از ۸ دسی زیمنس بر متر اثرات منفی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه گیاه دارویی ماریتیغال داشت ولی در کل نتایج نشان از تحمل نسبتاً مطلوب این گیاه در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه نسبت به این تنش داشت. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر این مطلب بود که اثرات کیتوزان بر گیاهان، وابستگی بسیاری به غلظت کاربرد آن دارد، به طوری که غلظت‌های بیشتر از ۰/۵ درصد اثرات منفی و غلظت‌های کمتر از ۰/۵ درصد اثرات مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها گیاه ماریتیغال داشت. استفاده از کیتوزان در غلظت‌های پایین‌تر (کمتر از ۰/۵ درصد) افزایش‌دهنده شاخص بنیه گیاهچه بوده و اثرات مطلوبی بر صفات فیزیولوژیکی گیاهچه داشت که در نهایت این اثرات مطلوب فیزیولوژیکی (افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان رنگیزه‌های گیاهی) منجر به ایجاد تحمل گیاهچه در برابر تنش شوری گردید.

همچنین طبق بررسی‌های صورت گرفته فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پلی فنل‌اکسیداز در ریشه بادمجان تحت تیمار کیتوزان افزایش یافته است (مانند^۱، ۲۰۱۰). در بسیاری از گیاهان از جمله گندم بالا رفتن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی بروز تنش شوری گزارش شده است (سایرام^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). ارزانی و صالحی (۱۳۹۱) در نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های ناشی از تنش شوری روی لاین‌های تریتیگاله و گندم گزارش کردند که در اثر این تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، افزایش یافت. اخیراً فعالیت آنتی‌اکسیدانت کیتوزان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (پارک^۳ و همکاران، ۲۰۰۴). کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O₂ را خنثی کند و مشخص شده است که خاصیت حفاظت‌کننده از DNA را دارد (هاریش‌پراشانس^۴ و همکاران، ۲۰۰۷). مکانیسم خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط کیتوزان ممکن است به ساختار خاص آن مربوط باشد که از تعداد زیادی گروه آمین و هیدروکسیل قابل دسترس تشکیل شده که با رادیکال‌های آزاد واکنش نشان می‌دهد (مهدوی و همکاران، ۱۳۹۲).

منابع

- احتشام‌نیا، ا. ۱۳۸۵. اثر تنش شوری بر شاخص‌های رشد گیاهچه ده گیاه دارویی. سومین همایش گیاهان دارویی. دانشگاه شهید بهشتی. تهران، ایران.
- ارزانی، ا. و صالحی، م. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در لاین‌های تریتیگاله و گندم در شرایط مزرعه. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱(۲): ۳۸-۴۹.
- اکرمیان، م. حسینی، س.ح. کازرونی‌منفرد، ا. و رضوانی‌مقدم، پ. ۱۳۸۶. اثر آماده‌سازی اسمزی بذر بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گیاه رازیانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۵(۱): ۳۷-۴۶.
- امامی‌بیستگانی، ز. سیادت، س.ع. بخشنده، ع.م. و قاسمی پیربلوطی، ع. ۱۳۹۴. تأثیر کودهای شیمیایی، آلی و کیتوزان بر خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی آویشن دنیایی (*Thymus deanensis* Celak) در منطقه شهرکرد. مجله پژوهش به زراعی، ۷(۱): ۲۷-۱۱.

¹ Mandal

² Sairam

³ Park

⁴ Harish Prashanth

- امیدیان، ف. کاشفی، ب. و متینی‌زاده، م. ۱۳۹۱. بررسی سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهای گیاه دارویی ماریتیغال (*Silybium marianum L.*). همایش ملی محیط‌زیست و تولیدات گیاهی، ۶ صفحه.
- جوادی‌پور، ز. موحدی‌دهنوی، م. و بلوچی، ح.ر. ۱۳۹۲. ارزیابی پارامترهای فتوسنتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، ۶(۲): ۳۵-۵۶.
- جودی، م. و شریف‌زاده، ف. ۱۳۸۵. بررسی اثر هیدورپرایمینگ در ارقام جو. مجله بیابان، ۱۱(۱): ۹۹-۱۰۹.
- دانشمند، ف. آروین، م.ج. کرامت، ب. و مؤمنی، ن. ۱۳۹۱. تأثیر تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر پارامترهای جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه ذرت (*Zea mays L.*) در شرایط مزرعه. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱(۱): ۷۰-۵۷.
- زادوریان، گ. خدارحمی، م. امینی، ا. و مصطفوی، خ. ۱۳۹۰. بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلریدسدیم بر بیوماس ارقام تجارتي گندم نان در مرحله‌ی گیاهچه‌ای. مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۱۷(۱): ۶۹-۸۳.
- صراحی‌نوبر، م. نیکنام، و. و مرادی، ب. ۱۳۸۹. اثر تنش شوری بر محتوای پروتئین، رنگیزه‌ها، فندها و ترکیبات فنلی در کشت بافت چند گونه از شنبليله‌های ایران. مجله علوم دانشگاه تهران، ۳۶(۲): ۵۹-۵۳.
- فتحی امیرخیز، ک. امیدي، ح. حشمتي، س. و جعفرزاده، ل. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تسريع‌کننده‌ها بر بنیه بذر و خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa L.*) تحت تنش شوری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۰(۲): ۲۹۹-۳۱۰.
- فرج‌زاده معماری تبریزی، ا. یارنیا، م. احمدزاده، و. و فرج‌زاده، ن. ۱۳۸۹. اثر پرایمینگ بذرهای با اندازه‌های مختلف رازیانه با غلظت‌های مختلف عصاره آللوپاتیک علف هرز تاج‌خروس در زمان‌های مختلف بر کنترل بیماری‌های بذر زاد رازیانه. همایش ملی گیاهان دارویی، ساری، جهاد دانشگاهی واحد مازندران.
- فضاآلی، ع. و بشارتی، ح. ۱۳۹۱. تأثیر شوری بر برخی شاخص‌های رشد و پروتئین کل یونجه تلقیح شده با جدایه‌های باکتری *Sinorhizobium meliloti* در شرایط گلخانه. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۳(۹): ۳۸-۲۵.
- فلاحی، ج. عبادی، م.ت. و قربانی، ر. ۱۳۸۷. اثر تنش‌های اسمزی و شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی مریم‌گلی کبیر (*Salvia sclarea L.*). تنش‌های محیطی در علوم کشاورزی، ۱۱(۱): ۶۷-۵۷.
- محمدزاده، م. پیغمبری، س.ع. نبی‌پور، ع. و نوروزی، م. ۱۳۸۹. ارزیابی عملکرد و صفات مورفولوژیکی در ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به شوری در برنج. مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۶(۴): ۷۱-۶۱.
- مصطفوی، خ. و حیدریان، ع. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی و شاخص‌های آن در چهار رقم گیاه آفتابگردان. زراعت و اصلاح نباتات، ۱۳۱(۴): ۱۲۳-۱۳۱.
- معصومی‌زواریان، ا. یوسفی‌راد، م. و اصغری، م. ۱۳۹۴. اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر ویژگی جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ماریتیغال (*Silybium marianum L.*) در شرایط تنش شوری. نشریه تحقیقات بذر، ۵(۲): ۴۸-۴۰.
- مهدوی، ب. مدرس‌ثانوی، س.ع. آقاعلیخانی، م. و شریفی، م. ۱۳۹۲. اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) در شرایط تنش کم‌آبی. مجله پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران)، ۲۶(۳): ۳۶۵-۳۵۲.
- مهدوی، ب. و صفری، ح. ۱۳۹۴. اثر کیتوزان بر رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک نخود (*Cicer arietinum L.*) در شرایط تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۴(۱۲): ۱۲۷-۱۱۷.

- نادری، ص. فاخری، ب.ع. و بهرامی، م. ۱۳۹۳. اثرگذاری کیتوزان بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زینان (*Carum copticum* L.). نشریه تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک، ۱(۲): ۱۸۷-۲۰۱.
- یزدانی‌بیوک، ر. رضوانی‌مقدم، پ. خزاعی، ح.ر. قربانی، ر. و آستارایی، ع. ۱۳۸۹. اثرات تنش‌های شوری و خشکی بر خصوصیات جوانه‌زنی بذر ماریتیغال (*Silbium marianum* L.). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸(۱): ۱۹-۱۲.
- Afzal, I. 2005. Seed enhancement to induced salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph.D. Thesis, Agriculture University of Faisalabad, Pakistan.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23: 112-121.
- Boonlertnirun, S., Sarabol, E.D., Meechoui, S., and Sooksathan, I. 2007. Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Kasetsart Journal:Nature Science*, 41: 1-6.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2): 248-254.
- Bybordi, A., and Tabatabaei, J. 2009. Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola (*Brassica napus* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2): 71-76.
- Cho, M.H., No, H.K., and Prinyawiwatkal, W. 2008. Chitosan treatments after growth and selected quality of sunflower sprouts. *Journal of Food Science*, 73(1): 70-77.
- Coma, V., Martial-Gros, A., Garreou, S., Copinet, A., Salin, F., and Deschamps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67(3): 1162-1169.
- Dhindsa, R.H., Plumb-Dhindsa, R., and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence correlated with increased level of membrane permeability, lipid peroxidation and decreased level of SOD and CAT. *Journal of Experimental Botany*, 32(1): 93-101.
- Ellis, R.H., and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 377-409.
- Gornik, K., Grzesik, M., and Romanowska-Duda, B. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cutting and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16: 333-343.
- Guan, Y.J.J., Hu, X., Wang, J., and Shao, C.X. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Journal of Zhejiang University Science B*, 10(6): 427-433.
- Harish Prashanth, K.V., Dharmesh, S.M., Jagannatha Rao, K.S., and Tharanathan, R.N. 2007. Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. *Carbohydrate Research*, 342(2): 190-195.
- Hoogenboom, G., and Peterson, C.M. 1987. Shoot growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agronomy Journal*, 79(4): 598-607.
- ISTA, 2010. International rules for seed testing. International seed testing association (ISTA).
- Jiang, H.F., and Ren, X.P. 2003. The effect on SOD activity and protein content in groundnut leaves by drought stress. *Zuo Wu Xue Bao*, 30(2): 169-174.
- Kader, M.A., and Jutzi, S.C. 2004. Effect of thermal and salt treatments during imbibition on germination seedling growth of sorghum (*Sorghom bicolor* L.) at 42/19. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190(1): 35-38.

- Kakreja, S., Nandval, A.S., Kumar, N., Sharma, S.K., Unvi, V., and Sharma, P.K. 2005. Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, and ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biologia Plantarum*, 49(2): 305-308.
- Khajeh, H., and Naderi, S. 2014. The effect of chitosan on some antioxidant enzymes activity and biochemistry characterization in Melissa (*Melissa officinalis*). *Research Journal of Crop Science in Arid Area*, 1: 100-116.
- Kowalski, B., Jimenez, F., Herrera, L., and Agramonet Penalver, D. 2006. Application of soluble chitosan in vitro and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers. *Potato Research*, 49(3): 167-176.
- MacAdam, J.W., Nelson, R., and Sharp, E. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3): 872-878.
- Mandal, S. 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *African Journal of Biotechnology*, 9: 8038-8047.
- Miller, T.R., and Champan, S.R. 1978. Germination responses of three forage grasses to different concentration of six salts. *Journal of Range Management*, 31(2): 123-124.
- Noor, M. E. H. E. R., and Khan, M. A. 1995. Factors affecting germination of summer and winter seeds of *Halopyrum mucronatum*. under salt stress. *Biology of Salt Tolerant Plants*, 6: 51-58.
- Oksu, G., Kaya, M.D., and Atak, M. 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4): 237-242.
- Pagter, M., Bragato, C., and Brix, H. 2005. Tolerance and physiological responses of (*Phragmites australis*) to water deficit. *Aquatic Botany*, 81(4): 285-299.
- Park, P.J., Je, J.Y., and Kim, S.K. 2004. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*, 55(1): 17-22.
- Rauf, M., Munir, M., Hassan, M.U., Ahmad, M., and Afzal, M. 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. *African Journal of Biotechnology*, 6(8): 971-975.
- Sairam, R.K., Rao, K.V., and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, Antioxidant active and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5): 1037-1046.
- Scott, S.J., James, R.A., and Williams, W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science*, 24(6): 1192-1199.
- Serrano, R., Macia, F.C., and Moreno, V. 1999. Genetic engineering of salt and drought tolerance with regulatory genes. *Science Horticulture*, 78(1): 261-269.
- Yildirim, E., and Guvenc, I. 2006. Salt tolerance of pepper cultivars during germination and seedling growth. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5): 347-353.

Effect of Chitosan on Seed Germination and Biochemical Traits of Milk Thistle (*Silybum marianum* L.) Seedling under Salt Stress

Mehdi Aghighi Shahverdi ^{1,*}, Heshmat Omid ², Sayed Esmail Mousavi ³

¹ PhD Students of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

² Assistant Medicinal Plant Research Center and Shahed University, Tehran, Iran

³ M.Sc. Student Department of Agronomy, Shahed University, Tehran, Iran

*Corresponding author, E-mail address: m.aghighi@shahed.ac.ir

(Received: 29.04.2016 ; Accepted: 19.11.2016)

Abstract

For the purpose of evaluating the effect of chitosan on seed germination and some biochemical characteristics of the milk thistle herb in the conditions of salinity, an experiment was conducted as factorial in a completely randomized design (CRD) with three replications in the Laboratory of Seed Science and Technology of Shahed University, Tehran in 2015. Experimental factors comprised salinity levels (0, 4, 8 and 12 dS.m⁻¹) and different levels of Chitosan (0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 percent). The results showed that salt stress reduced germination percentage, germination coefficient, germination speed, weight and length vigor index, radical, plumule and seedling length and total biomass and increased mean germination time. Seed priming with chitosan up to 0.5% concentration increased germination coefficient, weighted index vigor and plumule length. The highest amounts of total chlorophyll and total protein were obtained in seed priming with 0.5% chitosan levels in zero salinity level (control). By increasing salinity levels, the activity level of catalase and peroxidase increased, so that the highest level of the activity of these two enzymes was obtained in the salinity level of 12 dS.m⁻¹ in pre-treatment with 0.5% Chitosan. The results showed that seed priming with chitosan of 0.5% could reduce harmful effects of salt stress on some traits of milk thistle seedlings and could even improve their growth.

Keywords: *Catalase, Chlorophyll, Milk thistle, Peroxidase, Protein, Seed vigor*