

## تأثیر کیتوزان بر جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال<sup>(Silybum marianum L.)</sup> تحت تنش سوری

مهدی عقیقی شاهوردی<sup>۱\*</sup>، حشمت امیدی<sup>۲</sup>، سید اسماعیل موسوی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

<sup>۲</sup> استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و دانشگاه شاهد تهران

<sup>۳</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

\*پست الکترونیک نویسنده مسئول: [m.aghghi@shahed.ac.ir](mailto:m.aghghi@shahed.ac.ir)

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

### چکیده

به منظور ارزیابی اثر کیتوزان بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی ماریتیغال در شرایط تنش سوری، آزمایشی به صورت 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 سوری (صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و سطوح مختلف کیتوزان (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۰/۱ درصد) بودند. نتایج نشان داد که تنش سوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، ضربی 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 ضربی 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 سوری صفر دسی‌زیمنس بر متر (شاهد) به دست آمد. با افزایش تنش سوری، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز افزایش داشت، به طوری که بیشترین فعالیت این دو آنزیم در سطح تنش سوری 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 سوری را بر برخی صفات در گیاهچه ماریتیغال کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

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

۱ فرجزاده و همکاران، (۱۳۸۹). ماریتیغال یا خارمریم<sup>۱</sup>  
گیاهی دارویی، علفی، یکساله و از خانواده کاسنی است  
که در صنایع دارویی کاربردهای فراوانی دارد (یزدانی  
بیوک و همکاران، ۱۳۸۹).

تنش سوری یکی از عواملی است که تولید  
محصولات زراعی را بهخصوص در مناطق خشک و

### مقدمه

در سال‌های اخیر به دلیل عوارض جانبی ناشی از  
صرف 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

<sup>۱</sup> *Silybum marianum* L.

## عقیقی شاهوردی و همکاران: تأثیر کیتوزان بر جوانهزنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال...

جذب بیشتر مواد غذایی از خاک کمک کرده و بنابراین رشد گیاه را تحریک می‌کند (چو<sup>۸</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). در پژوهشی در بذرهای 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 پتانسیم را در ریشه گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد افزایش، ولی میزان سدیم ریشه را ۷/۱۴ درصد کاهش داد (مهندی و صفری، ۱۳۹۴). در تحقیق دیگری با افزایش میزان کیتوزان در گیاه ریحان تا ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان مالون دی‌آلدئید<sup>۹</sup>، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز<sup>۱۰</sup>، سوپر اکسیدیسموتاز<sup>۱۱</sup> و آسکوربات‌پراکسیداز<sup>۱۲</sup> نسبت به شاهد به ترتیب ۷۲/۹۶، ۹۱/۷۴، ۹۲/۶۱ و ۹۱/۷۴ میلی‌گرم درصد افزایش یافت (نادری و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج یافته‌های همین محققین نشان داد که کیتوزان به عنوان ایسیستور زیستی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، در مرحله چهار برگی گیاه زنیان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش تولید متabolیت‌های ثانویه می‌شود (نادری و همکاران، ۱۳۹۳).

با توجه به اثرات منفی تنش شوری بر جوانهزنی و رشد گیاهان و همچنین اهمیت گیاه ماریتیغال به عنوان 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

به منظور مطالعه تأثیر کیتوزان بر خصوصیات جوانهزنی بذر و شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال آزمایشی به صورت 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

نمی‌خشك کاهش می‌دهد (سرانو<sup>۱</sup> و همکاران، ۱۹۹۹). یکی از مراحل حساس گیاه به تنش شوری، مرحله جوانهزنی است (کادر و جاتزی<sup>۲</sup>، 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 بذرهای کشت شده 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 مرحله گیاهچه‌ای برای گیاه می‌تواند بسیار مضر باشد (رئوف<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۷).

پیش تیمار بذر به عنوان یک راهکار جهت افزایش استقرار گیاهچه بهویژه در شرایط نامطلوب مطرح است (جوکی و شریف‌زاده، ۱۳۸۵). در بسیاری از گیاهان استفاده از محرك‌های زیستی یکی از روش‌های کاهش اثرات مضر تنش‌های غیر زیستی و افزایش عملکرد و کیفیت آن‌ها می‌باشد (گورنیک<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). چندین ماده با خاصیت ایسیستوری<sup>۵</sup> از جمله کیتوزان شناسایی شده است که واکنش به تنش و مکانیسم‌های دفاعی را تحریک می‌کند (کوالسکی<sup>۶</sup> 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 سMI، زیست تجزیه‌پذیر، زیست سازگار و نیز دارای خواص ضد میکروبی است (کوما<sup>۷</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). کیتوزان به عنوان یک منبع کربن، ممکن است رشد میکروب‌های مفید در خاک را تحریک کرده، فرآیند تبدیل مواد آلی به معدنی را افزایش داده و به سیستم ریشه گیاهان در

<sup>1</sup> Serrano

<sup>2</sup> Kader and Jutzi

<sup>3</sup> Rauf

<sup>4</sup> Gornik

<sup>5</sup> Elicitors

<sup>6</sup> Kowalski

<sup>7</sup> Coma

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

$$GP = \frac{n}{N} \times 100 \quad [رابطه ۱]$$

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

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

تعداد بذرهاي جوانهزده در هر شمارش، di تعداد روز تا شمارش

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

PG درصد جوانهزنی، Tx تعداد روزهای آزمایش

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

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

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

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<sup>۷</sup> آرنون<sup>۷</sup> (۱۹۶۷) استفاده شد. بر طبق این روش ۰/۲۵ گرم گیاهچه ماریتیغال (برداشت شده در انتهای آزمایش رشد گیاهچه‌ای در داخل ظرف پتری) در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر 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 ۶۶۳ و ۶۴۶ با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Lambda 25) قرائت شد. با روابط زیر میزان کلروفیل کل محاسبه گردید.

$$Chl\ a = (12.25 \times A663 - 2.79 \times A649)$$

$$Chl\ b = (21.21 \times A646 - 5.1 \times A663)$$

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

<sup>7</sup> Arnon

(صفر، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و سطوح مختلف کیتوزان [صفر (پیش تیمار با آب مقطر)، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد] بودند. به منظور تیمار بذرهاي ماریتیغال با کیتوزان، ابتدا بذرها با استفاده از محلول ۵ درصد هیپوکلریت‌سدیم به مدت ۱۰ دقیقه ضدغونی 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 پتری دیش بر روی کاغذ صافی قرار داده شد و تنفس شوری در سطوح مختلف با استفاده از کلرید سدیم اعمال گردید. پتری دیش‌ها به مدت ۱۰ روز در ژرمیناتور با دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و در پایان هر ۲۴ ساعت تعداد بذرهاي جوانهزده شمارش شدند (معصومی زواریان و همکاران، ۱۳۹۴). به هنگام شمارش، بذرهاي جوانهزده تلقی می‌شند که طول ریشه‌چه آن‌ها از ۲ میلی‌متر بیشتر باشد (مايلر و چاپمن<sup>۱</sup>، ۱۹۷۸). در پایان روز دهم دهم پس از شمارش تعداد بذرهاي جوانهزده، از هر پتری دیش ۵ عدد گیاهچه به صورت 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 (MGT) از رابطه ۲ (پاگتر<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۵)، میانگین جوانهزنی روزانه از رابطه ۳ (هوگن‌بوم و پترسون<sup>۴</sup>، ۱۹۸۷)، میانگین مدت زمان جوانهزنی (GC) نیز از رابطه ۵ (اسکات<sup>۵</sup> و همکاران، ۱۳۹۳) محاسبه گردید.

<sup>1</sup> Miller and Chapman,

<sup>2</sup> ISTA

<sup>3</sup> Pagter

<sup>4</sup> Hoogenboom and Peterson

<sup>5</sup> Ellis and Roberts

<sup>6</sup> Scott

## عقیقی شاهوردی و همکاران: تأثیر کیتوزان بر جوانهزنی و صفات بیوشیمیابی گیاهچه ماریتیغال...

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  $\frac{۳۹}{۲}$  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  $\frac{۹}{۲}$ <sup>۴</sup> 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)<sup>۱</sup> 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 کلریدسیدیم بر جوانهزنی ماریتیغال گزارش شد که اثر تنش شوری بر درصد و سرعت جوانهزنی معنی‌دار بود و حداقل 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.

<sup>۴</sup> SAS 9.2

برای تعیین مقدار کل پروتئین محلول از روش برادفورد<sup>۱</sup> (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 استخراج شده 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<sup>۲</sup> و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. برای اندازه‌گیری، ۳۳ میکرومول از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید (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 فسفات‌پتابسیم، ۳۹ میلی‌لیتر پتابسیم مونوفسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۶۱ میلی‌لیتر پتابسیم‌دی‌فسفات ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد. برای به دست آوردن میزان پراکسیداز و گزارش آن، عدد قرائت شده از اسپکتروفوتومتر در عدد ۱۰۰۰ ضرب شده و بر  $\frac{۲۶}{۶}$  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<sup>۳</sup> و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک ۵۰ میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۱۵ میلی‌مول بافر فسفات‌پتابسیم (pH=۷) و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن بود مخلوط گردید. سپس جذب آن

<sup>۱</sup> Bradford

<sup>۲</sup> Mac-Adam

<sup>۳</sup> Dhindsa

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

متغیرات	آزادی	درجه	متانع	جوانهزنی	زمان	متوسط	ضریب	جوانهزنی	سرعت	وزنی بذر	شاخص	میانگین مریعات			
												بذر	وزنی بذر	شاخص	طول طولی بذر
کیتوزان (K)		۴		۷۴۹/۳۵ ns	۱/۸۲ ns	۱/۶۷°	۱/۸۴ ns	۲۴۱۹۴۷ ns	۲۴۸/۲۵°	./.۰۸ ns	۲۴۱/۸۴°		۳۰/۷۲ ns		
شوری (S)		۳		۳۶۹۱/۹°	۲۰۸/۴۲°	۱۹/۸۲°	۱۱۹/۹°	۲۴۳۰۳۱۹۱°	۴۶۴/۴۱°	./.۲۴°	۷۹۱/۷°	./.۰۹°	۱۹۴/۸۲°		
KxS		۱۲		۶۲۶/۴۲ ns	۲/۶۴ ns	./.۳۲ ns	۲/۳۷ ns	۶۳۶۹۵۴ ns	۵۸/۹۵ ns	./.۰۸ ns	۱۶۷/۴ ns	./.۰۱ ns	۴۹/۶۸ ns		
اشتباه آزمایشی		۴۰		۱۰۴۰/۸۵	۵/۹۸	./.۴۷	۴/۷۹	۶۸۸۱۵۴	۹۹/۰۸	./.۰۸	۸۹/۵۲	./.۰۱	۶۳/۷۵		
ضریب تغییرات (درصد)				۵/۱۴	۲۲/۴۹	۲۱/۶۱	۲۰/۳۵	۱۸/۵۴	۲۰/.۰۹	۵/۶۱	۹/۶۱	۱۰/۰۰	۹/۲۳		

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

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

سطوح شوری (دستی زیمنس بر متر)	درصد جوانهزنی (روز)	متوسط زمان جوانهزنی	ضریب جوانهزنی	سرعت جوانهزنی (بذر در روز)	شاخص طولی بذر	شاخص وزنی بذر	شاخص بذر	شاخص ساقه‌چه	شاخص طول	شاخص گیاهچه	بیوماس کل (میلی‌گرم) (سانتی‌متر)
صفر (شاهد)	۹۰/۶۶a	۱۰۵/۴۱a	۰/۹۵c	۵/۲۷a	۵۶/۰۳a	۱۰/۹۲a	۳/۹۵a	۱۰/۹۲a	۱۴/۶۸a	۶۳۰/۸۹a	
۴	۸۴/۶۶ab	۱۰۲/۶۴ab	۰/۹۹bc	۵/۱۱a	۵۱/۳۲ab	۱۰/۴۷b	۴/۴۷a	۷/۴۲b	۱۱/۸۹b	۶۴۶/۶۷a	
۸	۸۸/۰۰ab	۹۶/۳۴b	۱/۰۴b	۵/۰۶ab	۴۸/۰۰bc	۷۸۱۲۸c	۶/۳۴b	۶/۳۴b	۹/۰۷c	۶۱۹/۰۷b	
۱۲	۸۲/۵۰b	۱/۱۳a	۱/۱۳a	۴/۸۶b	۴۴۹۰/۸d	۴۲/۸۱c	۴/۱۵c	۴/۱۵c	۶/۰۰d	۶۱۰/۴۶b	

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

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

بذرهای برای آغاز فعالیت‌های خود و شروع جوانهزنی نیاز به آب کافی دارند. اگر بذر نتواند به‌اندازه‌ی 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 تنفس شوری و خشکی به

باپوردی و طباطبایی<sup>۱</sup> (۲۰۰۹) بیان داشتند که کاهش درصد و سرعت جوانهزنی در شرایط تنفس شوری با کاهش جذب آب توسط بذر در مرحله‌ی آبگیری و تورژسانس در ارتباط است.

#### میانگین مدت زمان جوانهزنی

نتیجه تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنفس 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، به‌طوری که بیشترین مقدار مربوط سطح شوری ۱۲ دستی‌زیمنس بر متر (۱/۱۳ روز) بود که با بقیه سطوح شوری تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲).

<sup>۱</sup> Bybordi and Tabatabaei

## عقیقی شاهوردی و همکاران: تأثیر کیتوزان بر جوانهزنی و صفات بیوشیمیابی گیاهچه ماریتیغال...

با افزایش سطوح تنفس شوری، میزان شاخص وزنی بنیه بذر کاهش یافت، به طوری که بیشترین میانگین این شاخص در تیمار شاهد (عدم شوری) به دست آمد (۵۶/۰۳) و همچنانی کمترین میانگین آن در تیمار ۱۲ (دسىزیمنس 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 معنی دار بود (جدول ۱). با افزایش سطح شوری از میزان شاخص طولی بنیه بذر کاسته شد. به طوری 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 تنفس شوری بر طول ریشه‌چه معنی دار بود (جدول ۱). طول ریشه‌چه در تیمار شاهد (عدم تنفس شوری) بیشترین میانگین را داشت (۱۰/۹۳ سانتی‌متر) و با افزایش میزان تنفس شوری این میانگین کاهش نشان داد، به طوری که کمترین میزان آن در تیمار ۱۲ (دسىزیمنس بر متر به دست آمد (۱۵/۴ سانتی‌متر) (جدول ۲).

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

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

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارد.

دلیل افت پتانسیل اسمزی، جذب آب مختل شده و در ادامه نیز از فعالیت آنزیم آلفا-امیلاز جلوگیری می‌شود (افضل<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵).

### ضریب جوانهزنی

تأثیر کیتوزان و تنفس شوری بر ضریب جوانهزنی به ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). میزان تغییرات ضریب جوانهزنی تحت تیمارهای کیتوزان به گونه‌ای 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 دسىزیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در مطالعه‌ای اثر تنفس شوری بر بنیه بذر و خصوصیات جوانهزنی گیاه دارویی سیاهدانه<sup>۲</sup> بررسی شد و بیشترین مقدار ضریب جوانهزنی در تیمار شاهد (عدم تنفس) 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<sup>۳</sup> 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 (بونلرتینران<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۷).

### شاخص وزنی و طولی بنیه بذر

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

<sup>1</sup> Afzal

<sup>2</sup> *Nigella sativa* L.

<sup>3</sup> Kukreja

<sup>4</sup> Boonlertnirun

سانتی‌متر در پتانسیل اسمزی  $1/5$ - مگاپاسکال رسید (مصطفوی و حیدریان، ۱۳۹۱).

### طول گیاهچه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش سوری بر صفت طول گیاهچه در سطح  $1$  درصد معنی‌دار بود (جدول  $1$ ). طول گیاهچه در تیمار شاهد عدم تنش سوری در مقایسه با سایر تیمارها، در بیشترین میزان خود بود ( $14/68$  سانتی‌متر) و با افزایش تنش سوری، طول گیاهچه کاهش نشان داد (جدول  $2$ ). از این مطلب می‌توان نتیجه گرفت که طول گیاهچه در گیاه ماریتیغال بهشدت تحت تأثیر سوری قرار می‌گیرد. فلاخی و همکاران ( $13/87$ ) در بررسی روی گیاه دارویی مریم‌گلی و احتشامیانیا ( $13/85$ ) در پژوهش روی ده گیاه دارویی گزارش کردند که با افزایش سطح تنش سوری، طول گیاهچه کاهش می‌یابد.

### بیوماس کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سوری بر بیوماس کل معنی‌دار بود (جدول  $1$ ). با افزایش سطح تنش سوری از شاهد (عدم تنش سوری) تا سطح  $4$  دسی‌زیمنس بر متر، میزان بیوماس کل افزایش یافت و به بیشترین مقدار خود رسید ( $63/89$  میلی‌گرم به ازای هر گیاهچه) (جدول  $2$ ). 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 سوری، میزان بیوماس کل در گیاهچه گندم کاهش یافت، بهطوری که بیشترین میزان بیوماس در سطح شاهد (عدم تنش) و کمترین میزان آن در بالاترین سطح تنش سوری 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 سوری  $4$  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 سوری نشان داد. محققین با بررسی اثر تنش سوری 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 سوری است (نور و خان، <sup>۱</sup> ۱۹۹۵). همچنین ذکر شد که تحت تنش سوری، عملکرد هورمون سیتوکینین در ریشه‌چه متوقف می‌شود (نور و خان، ۱۹۹۵). در پژوهشی دیگر کاهش طول ریشه‌چه با افزایش تنش سوری توسط ییلدیریم و گونچ <sup>۲</sup> (۲۰۰۶) در فلفل گزارش شد. همچنین در تحقیقی دیگر کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در نخودفرنگی تحت تنش سوری گزارش شد (اکسو <sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۵).

### طول ساقه‌چه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر تنش سوری و کیتوزان بر صفت طول ساقه‌چه به ترتیب در سطح احتمال  $1$  و  $5$  درصد معنی‌دار بود (جدول  $1$ ). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تا سطح  $4$  دسی‌زیمنس بر متر تنش سوری، میانگین طول ساقه‌چه تغییر معنی‌داری نداشت و کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه بعد از این سطح تنش سوری اتفاق افتاد (جدول  $2$ ). این مطلب بیانگر آن است که صفت طول ساقه‌چه تا حدودی می‌تواند سوری را تحمل کند. تأثیر کیتوزان نیز به‌گونه‌ای بود که در تیمار شاهد (عدم استفاده از کیتوزان)، طول ساقه‌چه بیشترین میانگین را داشت ( $3/81$  سانتی‌متر) که با تیمار  $5/0$  درصد کیتوزان تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول  $3$ ). با توجه به نتایج آزمایش می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که استفاده از کیتوزان برای تعدیل اثر سوری روی صفت طول گیاهچه بی‌تأثیر بوده است. در آزمایشی بر روی گیاه آفتابگردان با افزایش تنش سوری، طول ساقه‌چه بهشدت کاهش یافت به‌طوری که طول ساقه‌چه از  $4/19$  سانتی‌متر به  $2$

<sup>1</sup> Noor and Khan

<sup>2</sup> Yildirim and Guvenc

<sup>3</sup> Oksu

شد بهطوری که بیشترین مقدار در تیمار شاهد (عدم شوری) مشاهده گردید. تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوzan برای مقابله با اثر تنش شوری بر این صفت نیز به‌گونه‌ای بود که در همه‌ی سطوح تنش شوری، افزایش غلظت کیتوzan تا سطح ۰/۵ درصد، موجب افزایش میزان پروتئین کل گردید و در غلظت‌های بالاتر منجر به کاهش مقدار این صفت شد (جدول ۵). فضائلی 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 شبکیه‌های گردید (صراحی نوبن و همکاران، ۱۳۸۹). در مطالعه‌ای اثر غلظت‌های مختلف کیتوzan (صفر، ۰/۰۵، ۰/۰۲، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵، ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۰۳ 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 بذرها با غلظت پایین کیتوzan (۰/۰۰۵ تا ۰/۰۵ درصد) سبب افزایش آن گردید (مهندی و همکاران، ۱۳۹۲). کاهش میزان پروتئین در شرایط تنش شوری را می‌توان هم به تحریب پروتئین و هم کاهش سنتز آن نسبت داد (جیانگ و رن<sup>۳</sup>، ۲۰۰۳).

### فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری، کیتوzan و اثر متقابل شوری در کیتوzan بر غلظت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه ماریتیغال معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش افزایش تنش شوری، غلظت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافتند. در بین غلظت‌های مختلف کیتوzan نیز بیشترین مقدار این آنزیمه‌ها در غلظت ۰/۵ درصد به دست آمد. همچنین در شرایط بدون تنش (عدم شوری) میزان این آنزیمه‌ها در غلظت ۰/۰۵ درصد کیتوzan نسبت به سایر سطوح شوری اما با همین غلظت کیتوzan در کمترین میزان بود و تفاوت معنی‌داری با آن‌ها داشت (جدول ۵).

<sup>۳</sup> Jiang and Ren

### کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش شوری، کیتوzan و همچنین اثر متقابل شوری در کیتوzan 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 کیتوzan برای تعديل اثر شوری به‌گونه‌ای بود که تا 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 کیتوzan به دست آمد ۶۶/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) که با سطح تنش شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر و غلظت ۰/۵ درصد کیتوzan تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵). در مطالعه‌ای که اثر کیتوzan روی گیاه بادرنجبویه بررسی شد محققان گزارش کردند که میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتونوئید تحت تأثیر کیتوzan افزایش می‌یابد (خواجه و نادری<sup>۱</sup>، ۲۰۱۴). همچنین در پژوهشی دیگر با بررسی اثر غلظت‌های مختلف کیتوzan بر گیاه زنیان<sup>۲</sup> مشخص شد که کیتوzan باعث افزایش در میزان کلروفیل a و b در این گیاه می‌شود (نادری و همکاران، ۱۳۹۳). کیتوzan با فعل کردن و افزایش بیان ژن‌ها در مسیر بیوسنتری 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 کیتوzan 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

<sup>۱</sup> Khajeh and Naderi

<sup>۲</sup> *Trachyspermum ammi* L.

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

پراکسیداز	کاتالاز	میانگین مربعات		آزادی	درجه	منابع تغییرات
		پروتئین کل	کلروفیل کل			
۲۹۴۷/۲۹*	۶۳۲۵/۱۱**	۱/۸۴*	۲۱/۳۷*	۴	(K)	کیتوزان
۵۵۱۴۲۸/۲۴**	۶۱۵۲۱۵**	۲/۷۵**	۲۴/۲۵**	۳	(S)	شوری
۳۴۵۱۲/۱۱**	۲۵۱۵۳/۲**	۰/۱۰**	۲۳/۳۷**	۱۲	K×S	
۱۲۹۴/۲۲	۱۶۴۷/۵۱	۰/۰۰۲	۸/۱۵	۴۰		اشتباه آزمایشی
۹/۵۴	۷/۶۱	۹/۹۷	۱۵/۵۰			ضریب تغییرات (درصد)

\* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین انر مقابل تأثیر سطوح مختلف کیتوزان در تنش شوری بر شاخص های بیوشیمیابی 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 (دسى 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	۵۰/۲/۳ 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	۵۰/۹/۰ 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	۳۷۷۳/۰ d	۰/۵۹ f	۱۸/۱۵ f	۱	

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

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

در سطح شوری ۱۲ دسیزیمنس بر متر، میزان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌های بذرها 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 معنی داری نداشتند (جدول ۵). محققان در آزمایشی گزارش کردند که کیتوزان

<sup>1</sup> 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 تنש داشت. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش، بیانگر این مطلب بود که اثرات کیتوzan بر گیاهان، وابستگی بسیاری به غلظت کاربرد آن دارد، بهطوری که غلظت‌های بیشتر از ۰/۵ درصد اثرات منفی و غلظت‌های کمتر از ۰/۵ درصد اثرات مشبّتی بر جوانهزنی و رشد گیاهچه‌ها گیاه ماریتیغال داشت. استفاده از کیتوzan 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 کیتوzan افزایش یافته است (ماندال<sup>۱</sup>، ۲۰۱۰). در بسیاری از گیاهان از جمله گندم بالا رفتن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی بروز تنش شوری گزارش شده است (سایرام<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). ارزانی و صالحی (۱۳۹۱) در نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های ناشی از تنش شوری روی لاین‌های تربیتیکاله و گندم گزارش کردند که در اثر این تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، افزایش یافت. اخیراً فعالیت آنتی‌اکسیدانت کیتوzan مورد توجه زیادی قرار گرفته است (پارک<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). کیتوzan می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O<sub>2</sub><sup>۴</sup> را خنثی کند و مشخص شده است که خاصیت حفاظت کننده از DNA دارد (هاریش‌پراشانس<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۷). مکانیسم خنثی‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد توسط کیتوzan 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. اثر تنش شوری بر شاخص‌های رشد گیاهچه ده گیاه دارویی. سومین همایش گیاهان دارویی. دانشگاه شهرید بهشتی. تهران، ایران.
- ارزانی، ا. و صالحی، م. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در لاین‌های تربیتیکاله و گندم در شرایط مزرعه. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱(۲): ۴۹-۳۸.
- 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): ۴۶-۳۷.
- امامی‌بیستگانی، ز. سیادت، س.ع. بخشند، ع.م. و قاسمی پیربلوطی، ع. تأثیر کودهای شیمیابی، آلی و کیتوzan بر خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان ترکیبات فنلی گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus deanensis* Celak) در منطقه شهرکرد. مجله پژوهش به زراعی، ۷(۱): ۲۷-۱۱.

<sup>1</sup> Mandal

<sup>2</sup> Sairam

<sup>3</sup> Park

<sup>4</sup> Harish Prashanth

- امیدیان، ف. کاشفی، ب. و متینی‌زاده، م. ۱۳۹۱. بررسی سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذرهاي گیاه دارویی ماریتیغال ( *Silybum marianum* L.). همايش ملی محیط‌زیست و تولیدات گیاهی، ۶ صفحه.
- جوادی‌پور، ز. موحدی‌دهنوي، م. و بلوجی، ح.ر. ۱۳۹۲. ارزیابی پارامترهای فتوسنتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلنگ تحت تنفس شوری. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، ۶(۲): ۵۶-۳۵.
- جودی، م. و شریف‌زاده، ف. ۱۳۸۵. بررسی اثر هیدروپرایمینگ در ارقام جو. مجله بیابان، ۱۱(۱): ۹۹-۱۰۹.
- دانشمند، ف. آروین، م.ج. کرامت، ب. و مؤمنی، ن. ۱۳۹۱. تأثیر تنفس 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 تنفس شوری ناشی از کلریدسدیم بر بیوماس ارقام تجاری گندم نان در مرحله‌ی گیاهچه‌ای. مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۷(۱): ۸۳-۶۹.
- صرایح‌نوب، م. نیکنام، و. و مرادی، ب. ۱۳۸۹. اثر تنفس شوری بر محتواهای پروتئین، رنگیزه‌ها، قندها و ترکیبات فنلی در کشت بافت چند گونه از شبکه‌های ایران. مجله علوم دانشگاه تهران، ۳۶(۲): ۵۹-۵۳.
- فتحی امیرخیز، ک. امیدی، ح. حشمتی، س. و جعفرزاده، ل. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تسريع‌کننده‌ها بر بنیه بذر و خصوصیات جوانه‌زنی گیاه دارویی سیاه‌دانه ( *Nigella sativa* L.). تحت تنفس شوری. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۱۰(۲): ۳۱-۲۹۹.
- فرحزاده معماري تبريزی، ا. يارنيا، م. احمدزاده، و. و فرجزاده، ن. ۱۳۸۹. اثر پرايمينگ بذرهاي با اندازه‌های مختلف رازيانه با غلظت‌های مختلف عصاره آللوپاتیک علف هرز تاجخروس در زمان‌های مختلف بر کنترل بیماری‌های بذر زاد رازيانه. همايش ملی گیاهان دارویی، ساری، جهاد دانشگاهی واحد مازندران.
- فضائلی، 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 تنفس‌های اسمزی و شوری بر خصوصیات جوانه‌زنی مریم‌گلی کبیر ( *Salvia sclarea* L.). تنفس‌های محیطی در علوم کشاورزی، ۱(۱): ۶۷-۵۷.
- محمدزاده، م. پیغمبری، س.ع. نبی‌پور، ع. و نوروزی، م. ۱۳۸۹. ارزیابی عملکرد و صفات مورفولوژیکی در ژنتیک‌های متحمل و حساس به شوری در برنج. مجله زراعت و اصلاح نباتات، ۶(۴): ۷۱-۶۱.
- مصطفوی، خ. و حیدریان، ع. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر تنفس شوری بر جوانه‌زنی و شاخص‌های آن در چهار رقم گیاه آفتابگردان. زراعت و اصلاح نباتات، ۸(۴): ۱۳۱-۱۲۲.
- معصومی‌زاریان، ا. یوسفی‌راد، م. و اصغری، م. ۱۳۹۴. اثر پیش تیمار سالیسیلیک اسید بر ویژگی جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ماریتیغال ( *Silybum marianum* L.). در شرایط تنفس شوری. نشریه تحقیقات بذر، ۲۵(۲): ۴۸-۴۰.
- مهدوی، ب. مدرس‌ثانوی، س.ع. آق‌اعلیخانی، م. و شریفی، م. ۱۳۹۲. اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلنگ ( *Carthamus tinctorius* L.). در شرایط تنفس 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 تنفس شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۴(۱۲): ۱۲۷-۱۱۷.

عقیقی شاهوردی و همکاران: تأثیر کیتوزان بر جوانهزنی و صفات بیوشیمیایی گیاه‌چه ماریتیغال...

- نادری، ص. فاخری، ب.ع. و بهرامی، م. ۱۳۹۳. اثرگذاری کیتوزان بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زنیان (*Carum copticum L.*). نشریه تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک، ۲۰(۲): ۱۸۷-۲۰۱.
- بیزدانی‌بیوک، 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، ۱۸(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. Kasetart 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 Prinyawiwatkul, 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 (*Sorghum 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, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 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<sup>1,\*</sup>, Heshmat Omidi<sup>2</sup>, Sayed Esmail Mousavi<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> PhD Students of Crop Physiology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Assistant Medicinal Plant Research Center and Shahed University, Tehran, Iran

<sup>3</sup> M.Sc. Student Department of Agronomy, Shahed University, Tehran, Iran

\*Corresponding author, E-mail address: [m.aghighi@shahed.ac.ir](mailto: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<sup>-1</sup>) 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<sup>-1</sup> 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*