پژوهش‌های بذر ایران/ سال هفتم/ شماره اول/ ۱۳۹۹/ صفحات: ۲۲-۱

مقاله پژوهشی

تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی ذرت شیرین (*Zea mays* var. saccharata) در شرایط تنش اسمزی

رویا بهبود [۱]، علی مرادی [۲،*]، هوشنگ فرجی [۲]

چکیده مبسوط

مقدمه: ذرت شیرین (*Zea mays* var. saccharata) یکی از واریته‌های ذرت معمولی است که با حضور ژن و یا ژن‌هایی که بر ساخت نشاسته در آندوسپرم تأثیر می‌گذارند، از میان انواع ذرت متمایز شده است. با توجه به این‌که بیشتر گیاهان از جمله ذرت شیرین در مراحل اولیه جوانه‌زنی با مشکلاتی چون جوانه‌زنی غیر یکنواخت، سبز شدن ضعیف بذر روبرو هستند، به همین دلیل استفاده از محرک‌های آلی یکی از روش‌های کاهش اثرات مضر تنش‌های غیر زیستی، افزایش جوانه‌زنی، ظهور یکنواخت، افزایش عملکرد و کیفیت آن‌ها می‌باشد. تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی ذرت شیرین در شرایط پتانسیل اسمزی انجام گردیده است.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی تأثیر کیتوزان و تنش اسمزی بر شاخص‌های جوانه‌زنی و بیوشیمیایی ذرت شیرین، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با چهار تکرار در آزمایشگاه فناوری بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. فاکتور اول تنش اسمزی در پتانسیل‌های صفر، ۳-، ۶- و ۹- بار و فاکتور دوم پیش‌تیمار در پنج سطح کیتوزان صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد و یک سطح آب مقطر بود. ابتدا بذرها به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی درون محلول‌های موردنظر کیتوزان غوطه‌ور شدند، سپس بذرهای پیش‌تیمار شده تحت آزمون جوانه‌زنی استاندارد قرار گرفتند و پتانسیل اسمزی با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ اعمال گردید. جوانه‌زنی بذرها در داخل ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز تحت شرایط تاریکی انجام شد. صفات جوانه‌زنی و شاخص‌های بیوشیمیایی طبق روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: تنش اسمزی موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی بنیه گیاهچه، ضریب یکنواختی جوانه‌زنی، ضریب آلومتریک و محتوای پروتئین محلول و همچنین باعث افزایش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی، میزان پرولین، محتوای قندهای محلول و پراکسید هیدروژن گردید. پیش تیمار بذر با غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان سبب افزایش میزان پروتئین محلول، پرولین و محتوای قندهای محلول در تمامی پتانسیل‌های اسمزی گردید. در سطوح تنش اسمزی، بیشترین و کمترین میزان پراکسید هیدروژن به ترتیب در تیمار ۰/۵ درصد کیتوزان و تیمار آب مقطر مشاهده گردید. نتایج بدست آمده نشان داد که پیش تیمار با کیتوزان ۰/۵ درصد باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی و شاخص طولی بنیه گیاهچه گردید؛ همچنین باعث کاهش میانگین مدت زمان جوانه‌زنی و مالون‌دی‌آلدئید گردید. پیش تیمار بذر با کیتوزان صفر و ۱ درصد در مقایسه با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد کیتوزان باعث کاهش برخی از صفات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج کلی آزمایش نشان داد که تیمار بذر با کیتوزان ۰/۵ درصد می‌تواند به میزان زیادی اثرات مضر ناشی از تنش اسمزی بر صفات جوانه‌زنی و بیوشیمیایی را در گیاهچه ذرت شیرین کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: بنیه بذر، پرولین، ضریب آلومتریک، محتوای مالون‌دی‌آلدئید

جنبه‌های نوآوری:

۱- کیتوزان میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد.

۲- کیتوزان میزان قندهای محلول، پرولین و پروتئین محلول را افزایش می‌دهد.

۳- کیتوزان میزان مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن را کاهش می‌دهد.

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

[۲] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

*رایانامه نویسنده مسئول: amoradi@yu.ac.ir

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.1.5.2

http://dx.doi.org/10.29252/yujs.7.1.1

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۲۴)

مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) بعد از گندم (*Triticum aestivum* L.) و برنج (*Oriza sativa* L.) رتبه سوم را از نظر سطح زیر کشت در سطح جهانی به خود اختصاص داده است (اسکندرنژاد[1]، ۲۰۱۳). ذرت نسبت به سایر غلات از تنوع ژنتیکی بالاتری برخوردار است و در پی تلاش محققان به‌نژادی برای اصلاح ارقام ذرت و تولید هیبریدهای جدید، این گیاه در اکثر نقاط جهان کشت می‌شود. ذرت شیرین (*Zea mays* var. saccharata) به واسطه یک جهش ژنتیکی در مکان ژنی Su کروموزوم شماره چهار ذرت معمولی بدست آمده است. این تغییرات ژنتیکی باعث تجمع قندها و پلی‌ساکاریدهای محلول در آندوسپرم دانه به میزان دو برابر ذرت‌های معمولی شده است (اوکتم[2]و همکاران، ۲۰۱۰). با وجود صفات مطلوب کیفی ذرت شیرین و فوق شیرین کشت آن‌ها به جهت برخی مشکلات محدود است. بذرهای این ارقام دارای سرعت جوانه‌زنی پایین و اختلال در سبز شدن می‌باشند (راتین[3]و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین اختلال در فرآیند جوانه‌زنی و استقرار مطلوب سبب عدم یکنواختی در رسیدگی بلال و عملکرد پایین می‌شود (شیائو[4]و همکاران، ۲۰۱۰).

پرایمینگ یا پیش تیمار بذر به‌عنوان یک راهکار جهت افزایش درصد جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه به ویژه در شرایط نامطلوب محیطی مطرح است. پرایمینگ بذر که یکی از روش‌های کاربردی تیمار پیش از کاشت برای تقویت بذر محسوب می‌شود، تیمار خیساندن بذر با آب و یا مواد دارای فشار اسمزی یا ماتریک و نیز مواد زیستی و سایر مواد تحریک‌کننده جوانه‌زنی است (کاپلند و مک‌دونالد[5]، ۲۰۰۱). هدف کلی پرایمینگ بذر آبدهی جزئی آن‌ها می‌باشد به طوری‌که بذر مرحله اول (جذب سریع آب) و دوم (شروع فرآیندهای بیوشیمیایی و هیدرولیز قندها) جوانه‌زنی را طی نموده ولی از ورود به مرحله سوم یعنی خروج ریشه‌چه و در نتیجه جوانه‌زنی (مصرف قند توسط جنین و رشد ریشه‌چه) باز می‌ماند (برادفورد[6]، ۱۹۹۵). نتایج پژوهش جوکار و نورحسینی[7] (۲۰۱۷) نشان داد که افزایش مدت زمان هیدروپرایمینگ باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول گیاهچه و بنیه طولی گیاهچه در دو گیاه گندم و ذرت شد.

پرایمینگ با محرک‌های آلی در بسیاری از گیاهان باعث کاهش اثرات مضر تنش‌های غیرزیستی و افزایش عملکرد و کیفیت آنها می‌گردد (گورنیک[8]و همکاران، ۲۰۰۸). کیتوزان یک پلی‌ساکارید گلوکوزامین مشتق شده از کیتین است (نو[9]و همکاران، ۱۹۸۹) که جزء محرک‌های آلی به شمار می‌آید و واکنش به تنش و سازوکارهای دفاعی گیاهان را تحریک می‌کند (کوالسکی[10]و همکاران، ۲۰۰۶). در کشاورزی از کیتوزان برای پوشش دادن بذر، برگ و میوه استفاده می‌شود (دولایگر[11]و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین به‌عنوان کود و در کنترل آزادسازی ترکیبات شیمیایی سموم (سوکوانزینت[12] و همکاران، ۲۰۰۱)، برای افزایش تولید گیاه، تحریک ایمنی گیاه (هادویگر[13]و همکاران، ۲۰۰۲)، محافظت گیاهان در مقابل میکروارگانیسم‌ها (پوزپیزنی[14]و همکاران، ۱۹۹۱) و تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه به‌کار می‌رود. پرایمینگ بذر با دو نوع محلول مختلف کیتوزان قدرت جوانه‌زنی بذرهای ذرت را افزایش داد (شائو[15] و همکاران، ۲۰۰۵). ما[16]و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که پیش تیمار بذرهای گندم با کیتوزان اثرات تنش اسمزی را در این گیاه با افزایش طول ساقه، طول ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه و میزان کلروفیل کاهش می‌دهد. همچنین آن‌ها دریافتند که

[1] Eskandarnejad
[2] Oktem
[3] Rattin
[4] Xiao
[5] Copeland and McDonald

[6] Bradford
[7] Joker and Noorhosseini
[8] Gornik
[9] No
[10] Kowalski
[11] Devlieghere
[12] Sukwattanasinitt
[13] Hadwiger
[14] Pospieszny
[15] Shao
[16] Ma

کیتوزان سبب افزایش میزان پرولین و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید گیاه می‌گردد.

با توجه به اینکه جوانه‌زنی به‌عنوان اولین مرحله نموی در گیاهان و یکی از مراحل مهم در سبز شدن گیاهچه می‌باشد و با نگاهی به نقش بهبوددهنده کیتوزان در گیاه، امکان بهره‌گیری از پیش تیمار کیتوزان بر جوانه‌زنی بذرهای ذرت شیرین به‌منظور تعدیل اثرات زیان‌بار تنش اسمزی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به منظور مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاهچه ذرت شیرین (*Zea mays* var. saccharata) تحت تنش اسمزی با استفاده از امکانات محیط کنترل شده در آزمایشگاه فناوری بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۳۹۷ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، با چهار تکرار اجرا گردید. عامل اول تنش اسمزی در پتانسیل‌های صفر (آب مقطر)، ۳-، ۶- و ۹- بار و عامل دوم پیش‌خیساندن در پنج سطح کیتوزان صفر (اسید استیک ۰/۳ درصد)، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد و یک سطح آب مقطر بود. به‌منظور تیمار بذرهای ذرت شیرین هیبرید چلنجر سمینیس[1] با کیتوزان (پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین محصول شرکت سیگما)، ابتدا محلول‌های مختلف کیتوزان با اسید استیک ۰/۳ درصد و آب مقطر آماده گردید. سپس بذرها به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی درون محلول‌های موردنظر غوطه‌ور شدند (نادری[2] و همکاران، ۲۰۱۴). در هر پتری ۲۵ عدد بذر روی کاغذ صافی قرار داده شد و تنش اسمزی با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ با روش (میشل و کافمن[3]، ۱۹۷۳) اعمال گردید. جوانه‌زنی بذرها در داخل ژرمیناتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز تحت شرایط تاریکی انجام شد (ایستا[4]، ۲۰۱۰). شمارش بذرهای جوانه‌زده از روز اول در ساعتی معین صورت گرفت. به‌هنگام شمارش، بذرهای جوانه‌زده تلقی می‌شدند که طول ریشه‌چه آنها از ۲ میلی‌متر بیشتر بوده است (مایلر و چاپمن[5]، ۱۹۷۸). در پایان دوره ۷ روزه پس از شمارش تعداد بذرهای جوانه‌زده، از هر پتری ۵ عدد گیاهچه به صورت تصادفی انتخاب و طول گیاهچه برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد (اکرمیان[6] و همکاران، ۲۰۰۷). برای محاسبه درصد جوانه‌زنی[7] از رابطه ۱ (ایستا، ۲۰۱۰)، سرعت جوانه‌زنی[8] از رابطه ۲ (پاگتر[9] و همکاران، ۲۰۰۹)، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی[10] از رابطه ۳ (باجی[11] و همکاران، ۲۰۰۲)، شاخص بنیه گیاهچه از رابطه ۴ (ایستا، ۲۰۱۰)، ضریب یکنواختی جوانه‌زنی[12] با استفاده از نرم‌افزار GERMIN و رابطه ۵ (سلطانی[13] و همکاران، ۲۰۰۱) و ضریب آلومتریک از رابطه ۶ (ردی و خان[14]، ۲۰۰۱) استفاده شد.

رابطه ۱: درصد جوانه‌زنی (GP) (درصد)

$$GP=(n/N)\times 100$$

n: مجموع کل بذرهای جوانه‌زده در پایان آزمایش، N: کل بذرهای کاشته شده

رابطه ۲: سرعت جوانه‌زنی (GR) (بذر در روز)

$$GR=\Sigma\frac{Ni}{Ti}$$

Ni: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز i ام، Ti: تعداد روزهای پس از جوانه‌زنی

رابطه ۳: میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (MGT) (روز)

$$MGT=\frac{\Sigma(NiTi)}{N}$$

Ni: تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز i ام، Ti: تعداد روزهای پس از جوانه‌زنی

رابطه ۴: شاخص بنیه گیاهچه

[1] Seminis challenger
[2] Naderi
[3] Michel and Kaufmann
[4] ISTA
[5] Miller and Chapman
[6] Akramian
[7] Germination Percentage
[8] Germination Rate
[9] Pagter
[10] Mean Germination Time
[11] Bajji
[12] Germination Uniformity Coefficient
[13] Soltani
[14] Reddy and khan

۱۰۰/ (طول گیاهچه × GP) =شاخص بنیه گیاهچه

GP: درصد جوانه‌زنی

رابطه ۵: یکنواختی جوانه‌زنی (GU) (روز)

$Gu = D90-D10$

D90: مدت زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی، D10: مدت زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی

رابطه ۶: ضریب آلومتریک

$$\text{ضریب آلومتریک} = \frac{\text{میانگین طول ریشه‌چه}}{\text{میانگین طول ساقه‌چه}}$$

جهت اندازه‌گیری میزان پرولین و قندهای محلول ابتدا لازم است تا عصارهٔ الکلی از نمونه‌های منجمد شده تهیه گردد. بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه‌های منجمد شده انتخاب و در هاون کاملاً له شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه و به لولهٔ آزمایش دربدار منتقل گردید و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. بعد مایع روئی جدا و به لولهٔ دربدار به حجم ۲۰ میلی‌لیتر منتقل گردید. سپس دو مرتبه و هربار ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به بخش جامد باقی‌مانده اضافه و کاملاً شستشو (ورتکس) شد. سپس بخش مایع روئی به لولهٔ آزمایش منتقل گردید. در نهایت ۱۵ میلی‌لیتر از عصارهٔ بدست آمده در دمای پایین سانتریفیوژ (۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) شد و فاز مایع بالائی به دقت جدا و به یخچال ۴ درجهٔ سلسیوس منتقل گردید.

برای اندازه‌گیری قندهای محلول از روش ایریگوئن[1] و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. ابتدا ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکی و ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده به داخل لوله‌های آزمایش منتقل گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب نوری در طول موج ۶۲۵ نانومتر با اسپکتوفتومتر قرائت گردید. سپس براساس منحنی استانداردهای از گلوکز، غلظت قندهای محلول در نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بذر محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری پرولین از روش پاکوئین و لچازر[2] (۱۹۷۹) استفاده شد. در ابتدا ۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی، ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر شده، ۵ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به لوله‌های آزمایش منتقل شد. سپس نمونه‌ها داخل حمام آب جوش به مدت ۴۵ دقیقه قرار گرفت؛ بعد از آن به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر بنزن اضافه و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. سپس نمونه‌ها به مدت نیم ساعت به حالت سکون قرار داده شد و میزان جذب نور نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید. سپس براساس منحنی استاندارد پرولین، غلظت پرولین در نمونه‌ها برحسب میکرومول بر میلی‌لیتر وزن تر بذر محاسبه شد.

برای سنجش محتوای مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید غشای سلولی از روش هیت و پاکر[3] (۱۹۶۸) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری MDA میزان ۰/۲ گرم نمونه‌های منجمد شده در ۳ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد عصاره‌گیری شد. سپس در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت نیم‌ساعت و با دور ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های صاف شده، ۱ میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد اضافه گردید و به مدت نیم ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰°C قرار داده شدند. سپس میزان MDA با اندازه‌گیری جذب با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی (۱۵۵ $mM^{-1}\ cm^{-1}$) محاسبه گردید.

سنجش پراکسید هیدروژن با استفاده از روش لورتو و ولیکوا[4] (۲۰۰۱) انجام شد. به این منظور مقدار ۰/۲ گرم از نمونه‌های منجمد شده با ۲ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱ درصد در حمام یخ عصاره‌گیری شد. هموژن حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد، در حمام یخ ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله آزمایش منتقل و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ و ۱ میلی‌لیتر یدید

[1] Irigoyen
[2] Pquine and Lechasseur
[3] Heath and Packer
[4] Loreto and Velikova

پتاسیم ۱ میلی‌مولار اضافه گردید. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. سپس براساس منحنی استاندارد آب اکسیژنه، غلظت هیدروژن پراکسید در نمونه‌ها برحسب میکرومول برگرم وزن تر بذر محاسبه شد.

جهت اندازه‌گیری کمی پروتئین محلول از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده شد. اساس روش برادفورد بر اتصال رنگ کوماسی بریلیانت بلوجی G-250[1] موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است. مقدار ۰/۲ گرم از نمونه‌های منجمد شده در هاون چینی و در ظرف یخ با ۲ میلی‌لیتر بافرفسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۶/۸ هموژن شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس، سانتریفیوژ گردید. برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین، ۱۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده داخل میکروتیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و ۹۹۰ میکرولیتر از محلول برادفورد به آن اضافه گردید. پس از طی مدت زمانی، جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید و با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده با سرم آلبومین گاوی میزان پروتئین برحسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بذر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام گرفت؛ در صورت معنی‌دار شدن برهمکنش‌ها، تجزیه واریانس برش‌دهی انجام شد و مقایسه میانگین اثرات اصلی با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و مقایسه میانگین برهمکنش‌ها با رویه L.S.Means در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایش نشان داد که کیتوزان و تنش اسمزی بر میزان قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی برهمکنش آن‌ها بر صفت مذکور معنی‌دار نگردید (جدول ۱). با افزایش پتانسیل اسمزی محتوای قندهای محلول افزایش یافت. به‌طوری‌که میزان قندهای محلول (۲۵/۹۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) در سطح صفر بار پتانسیل اسمزی به میزان (۳۴/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) در سطح ۹- بار پتانسیل اسمزی افزایش یافت. میزان تغییرات محتوای قندهای محلول تحت غلظت‌های کیتوزان به‌گونه‌ای بود که بیشترین میزان قندهای محلول (۳۰/۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) در تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد و کمترین میزان آن (۲۹/۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) در غلظت کیتوزان صفر مشاهده شد (جدول ۲).

پرایم با کیتوزان ۰/۵ درصد در ذرت سبب افزایش غلظت قندهای محلول و فعالیت پرولین و اکسیداز و کاتالاز شد (گوان[2] و همکاران، ۲۰۰۹). تحقیقات نشان داد میزان قندهای محلول تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) افزایش یافت (مهدوی[3] و همکاران، ۲۰۱۱). با افزایش غلظت کیتوزان، تغییرات فراساختاری در اندامک‌های سلولی از قبیل تونوپلاست و آنزیم‌های مسیر متابولیسم قندها ایجاد می‌شود. در واقع این یک نوع سازوکار تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تیمار کیتوزان می‌باشد. در این بررسی افزایش محتوای قندهای محلول تحت تیمار کیتوزان مشاهده شد که احتمالاً به دلیل هیدرولیز نشاسته است (کواچیک[4] و همکاران، ۲۰۰۹).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای آزمایش نشان داد که کیتوزان، تنش اسمزی و برهمکنش آن‌ها بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطوح مختلف تنش اسمزی برای میزان پرولین معنی‌دار بود (جدول ۳). همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است گیاه برای مقابله با تنش، با افزایش پتانسیل اسمزی پرولین بیشتری تولید کرده

[1] Coomassie Brilliant Blue G-250

[2] Guan
[3] Mahdavi
[4] Kovacik

است. حضور تیمار کیتوزان باعث کمک به افزایش میزان پرولین بوده است. به‌طوری‌که در پتانسیل اسمزی صفر بار میزان پرولین با میانگین ۳/۱۸ میکرومول بر گرم وزن تر بذر در غلظت صفر کیتوزان به ۳/۹۸ میکرومول بر گرم وزن تر بذر در غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان افزایش یافت. در پتانسیل اسمزی ۳- بار بیشترین میزان پرولین (۵/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر بذر) مربوط به کیتوزان ۰/۵ درصد و کمترین میزان آن (۴/۳۶ میکرومول بر گرم وزن تر بذر) مربوط به کیتوزان صفر بود که با تیمار آب مقطر اختلاف معنی‌داری نداشت. در پتانسیل‌های اسمزی ۶- و ۹- بار مشابه پتانسیل اسمزی صفر بار تیمار ۰/۵ درصد کیتوزان دارای بیشترین میزان پرولین بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف کیتوزان و تنش اسمزی برای برخی صفات بیوشیمیایی بذر ذرت شیرین

Table 1. Analysis of variance for different levels of chitosan (CH) and osmotic potential (OS) for some biochemical traits of sweet corn seed

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square				
		قندهای محلول Soluble sugars	پرولین Proline	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	پروتئین محلول Soluble protein
کیتوزان (CH)	5	2.01**	1.09**	6.96**	0.39**	31.20**
تنش اسمزی (OS)	3	230.03**	58.08**	1.45**	27.08**	296.16**
CH×OS	15	0.011 ns	0.023**	1.13**	0.0015**	0.53**
خطای آزمایش Error	48	0.004	0.002	0.0000007	0.0008	0.006
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		0.21	0.87	11.71	0.70	0.55

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

ns and ** represent not significant, significant at 5% and 1% probability, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات تنش اسمزی و کیتوزان برای محتوای قندهای محلول ذرت شیرین

Table 2. Mean comparison of the effects of osmotic potential and chitosan for soluble sugars content of sweet corn

نوع تیمار	سطوح تیماری	محتوای قندهای محلول Soluble sugars content ($mg.g^{-1}FW$)
پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)	0	25.93^{d}
	-3	28.19^{c}
	-6	30.42^{b}
	-9	34.33^{a}
کیتوزان (درصد) Chitosan (%)	آب مقطر Distilled water	29.38^{e}
	کیتوزان صفر Chitosan-free	29.16^{f}
	0.25	29.91^{c}
	0.5	30.22^{a}
	0.75	30.03^{b}
	1	29.61^{d}

میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵٪ آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with similar superscript letters are not significantly different at P<0.05 of Duncan's multiple range test.

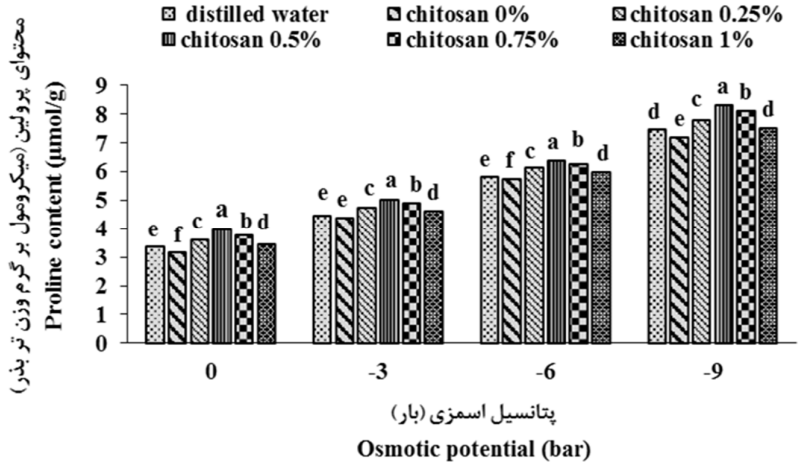
جدول ۳. تجزیه واریانس برش‌دهی تأثیر سطوح مختلف کیتوزان در هر سطح تنش اسمزی برای برخی شاخص‌های بیوشیمیایی بذر ذرت شیرین

Table 3. Analysis of variance for the effect of different levels of chitosan at each level of osmotic potential using the slicing method for some biochemical characteristics of sweet corn seeds

پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square			
		پرولین Proline	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	پروتئین محلول Soluble protein
0	5	0.24**	4.16^{ns}	0.097**	9.98**
-3	5	0.19**	0.00056**	0.098**	12.16**
-6	5	0.18**	0.000000675**	0.116**	3.64**
-9	5	0.54**	0.000000667**	0.083**	7.02**

^{ns} و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

^{ns} and ** represent not significant, significant at 5% and 1% probability, respectively.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر پرولین گیاه ذرت شیرین در هر سطح پتانسیل اسمزی (مقایسه میانگین با استفاده از رویه L.S.Means انجام شده و در هر سطح پتانسیل اسمزی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند).

Fig. 1. Mean comparison of the effects of different levels of chitosan on the proline content of sweet corn at each level of osmotic potential. (Means comparison was done using L.S.Means procedure and at each level of osmotic potential, means with at least one common letter are not significantly different).

مهدوی و صفری[1] (۲۰۱۵) در پژوهش خود نشان دادند که در شرایط بدون تنش، تیمار با غلظت‌های کیتوزان سبب افزایش میزان پرولین نسبت به شاهد اسید استیک و آب مقطر گردید. همچنین تیمار بذرهای نخود با هر دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ درصد کیتوزان در تمامی سطوح تنش، میزان پرولین را نسبت به شاهد افزایش داد. نتایج حاصل از مطالعه‌ای نشان داد که استفاده از نانو ذرات کیتوزان باعث افزایش میزان پرولین، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت تنش خشکی گردید (بهبودی[2]و همکاران، ۲۰۱۸). در تنش‌ها رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابند و باعث بروز تنش اکسیداتیو و آسیب زدن به ساختار غشاء سلولی می‌شود. سلول‌های گیاهی با افزایش آنزیم‌های سرکوب‌کننده رادیکال‌های آزاد و افزایش قندها و پروتئین‌های محلول در آب، درصدد جبران و مقابله با تنش و آسیب‌های وارده

[1] Mahdavi and Safari

[2] Behboudi

می‌شوند؛ و یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های محلول در آب که در تعدیل تنش‌های وارده نقش اساسی دارد پرولین است. کیتوزان با افزایش میزان پرولین در اندام‌های گیاهی باعث ایجاد مقاومت و کمتر شدن آسیب‌های ناشی از تنش‌ها می‌شود (مهدوی و همکاران، ۲۰۱۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کیتوزان، تنش اسمزی و برهمکنش آن‌ها بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطوح ۳-، ۶- و ۹- بار تنش اسمزی برای شاخص مالون‌دی‌آلدئید معنی‌دار بود (جدول ۳). با افزایش پتانسیل اسمزی، میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت و پیش‌تیمار با غلظت‌های مختلف کیتوزان سبب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به تیمار آب مقطر گردید. به‌طوری‌که در پتانسیل اسمزی صفر بار بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید (۰/۰۰۲۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) در تیمار آب مقطر و کمترین میزان آن (۰/۰۰۱۷ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) در غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل ۲). در پتانسیل‌های اسمزی ۳-، ۶- و ۹- بار مشابه پتانسیل اسمزی صفر بار بیشترین و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب مربوط به تیمار آب مقطر و کیتوزان ۰/۵ درصد بود.

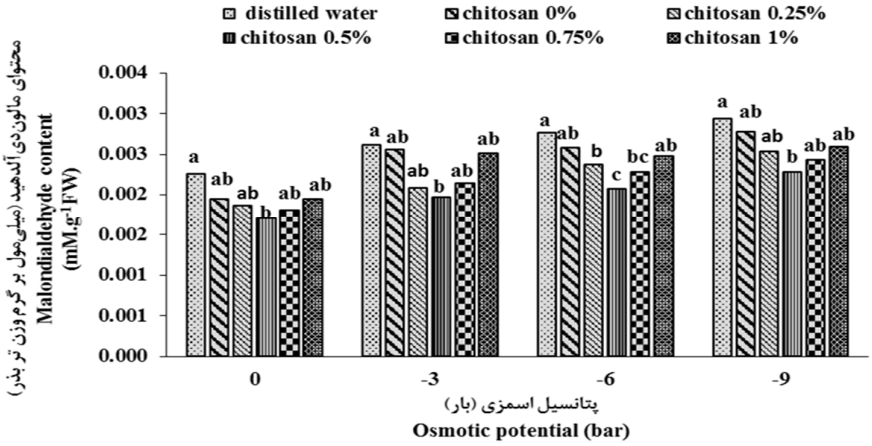
نتایج حاصل از تحقیق مهدوی و صفری (۲۰۱۵) نشان داد که پیش تیمار بذر نخود با غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ درصد کیتوزان باعث کاهش میزان این صفت نسبت به شاهد گردید و همچنین تحت تنش میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت. در پژوهشی گیاهچه برنج با دو غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر کیتوزان پیش تیمار گردید و نتایج نشان داد که پیش تیمار با هر دو غلظت کیتوزان باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد گردید (مارتینز گونزالز[1] و همکاران، ۲۰۱۵). مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان محصول نهایی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در غشاء سلولی تولید می‌شود. تنش اکسیداتیو سبب افزایش در محتوای مالون‌دی‌آلدئید می‌گردد (وبر[2] و همکاران، ۲۰۰۴).

کاهش مالون‌دی‌آلدئید توسط کیتوزان احتمالاً به این دلیل است که کیتوزان می‌تواند با کلاته کردن یون‌های فلزی یا ترکیب شدن با لیپیدها، اکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد (ژو[3] و همکاران، ۲۰۰۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش تنش اسمزی در کیتوزان بر میزان پراکسید هیدروژن معنی‌دار بود (جدول ۱). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطوح مختلف تنش اسمزی برای میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). همان‌طور که در شکل (۳) نشان داده شده است با افزایش سطح تنش اسمزی میزان پراکسید هیدروژن افزایش یافت. پیش تیمار با غلظت‌های کیتوزان سبب کاهش میزان پراکسید هیدروژن نسبت به آب مقطر گردید. در پتانسیل اسمزی صفر بار بیشترین میزان پراکسید هیدروژن در تیمار آب مقطر (۲/۸۷ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر) بود که به میزان (۳۶/ ۲ میلی‌مول بر گرم وزن تر بذر مربوط به غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان کاهش یافت. در سطوح ۳-، ۶- و ۹- بار پتانسیل اسمزی مشابه سطح صفر بار پتانسیل اسمزی، تیمار آب مقطر دارای بیشترین میزان و تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد دارای کمترین میزان پراکسید هیدروژن بود.

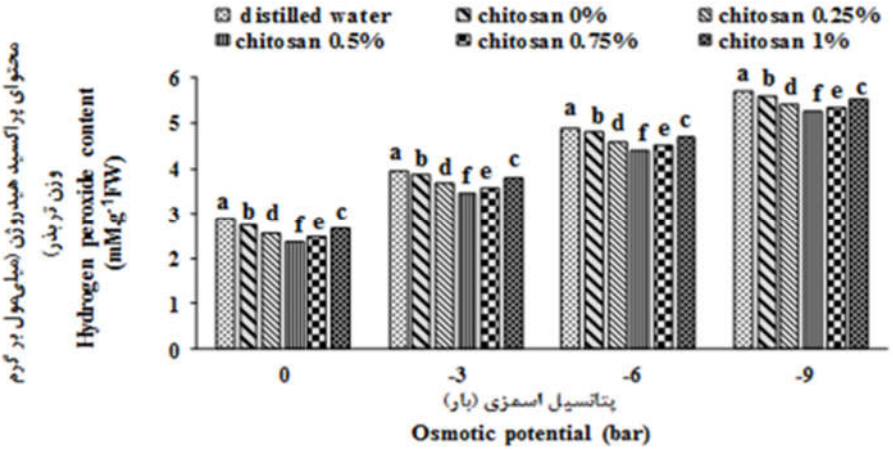
نتایج حاصل از تحقیقی نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش آسیب اکسیداتیو به صورت H_2O_2 بر روی عدس (*Lens culinaris* Medik) شد (اوکتم[4] و همکاران، ۲۰۰۸). ژئو[5] و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی روی برنج گزارش کردند که رقم‌های متحمل به تنش خشکی و سرما، تجمع کمتری از پراکسید هیدروژن را دارند. در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرآیندهای متابولیکی در گیاهان باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند اما گیاهان مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی کارآمدی برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن دارند (اترب-اورمعت[6] و همکاران، ۱۹۹۸).

[1] Martínez
[2] Weber
[3] Zhou
[4] Oktem
[5] Guo
[6] Iturbe-Ormaetxe



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید گیاه ذرت شیرین در هر سطح پتانسیل اسمزی (مقایسه میانگین با استفاده از رویه L.S.Means انجام شده و در هر سطح پتانسیل اسمزی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند).

Fig. 2. Mean comparison of the effects of different levels of chitosan on malondialdehyde content of sweet corn at each level of osmotic potential. (Means comparison was done using L.S.Means procedure and at each level of osmotic potential, means with at least one common letter are not significantly different).



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر محتوای پراکسید هیدروژن گیاه ذرت شیرین در هر سطح پتانسیل اسمزی (مقایسه میانگین با استفاده از رویه L.S.Means انجام شده و در هر سطح پتانسیل اسمزی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند).

Fig. 3. Mean comparison of the effects of different levels of chitosan on hydrogen peroxide content of sweet corn at each level of osmotic potential. (Means comparison was done using L.S.Means procedure and at each level of osmotic potential, means with at least one common letter are not significantly different).

تحت شرایط تنش این تعادل به هم خورده و مقدار گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند. حضور این گونه‌های فعال برای گیاه مضر بوده و موجب آسیب به ساختارهای سلولی مثل غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (لاسپینا[1] و همکاران، ۲۰۰۵). اخیراً فعالیت آنتی‌اکسیدانت کیتوزان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (پارک[1] و همکاران، ۲۰۰۴).

[1] Laspina

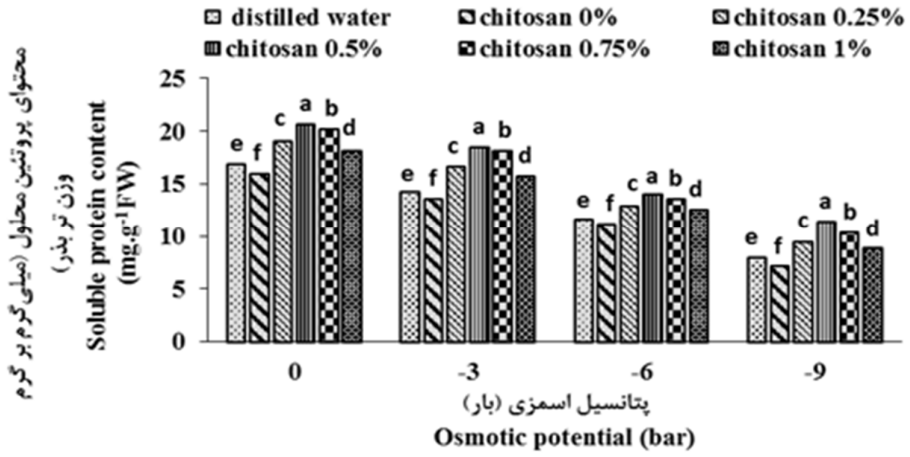
کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O_2 را خنثی کند و مشخص شده است که خاصیت حفاظت کننده از DNA را دارد (پرشنت[2]و همکاران، ۲۰۰۷). سازوکار خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط کیتوزان ممکن است به ساختار خاص آن مربوط باشد که از تعداد زیادی گروه آمین و هیدروکسیل قابل دسترس تشکیل شده که با رادیکال‌های آزاد واکنش نشان می‌دهد (مهدوی[3]و همکاران، ۲۰۱۳).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش اسمزی، کیتوزان و همچنین برهمکنش آن‌ها بر محتوای پروتئین محلول معنی‌دار بود (جدول ۱). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطوح مختلف تنش اسمزی برای پروتئین محلول معنی‌دار بود (جدول ۳). شکل (۴) بیانگر این است که با افزایش سطوح تنش اسمزی میزان پروتئین محلول بذر ذرت شیرین کاهش یافت. تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان برای مقابله با اثر تنش اسمزی بر این صفت نیز به گونه‌ای بود که در همه سطوح تنش اسمزی، غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان موجب افزایش میزان پروتئین محلول گردید. به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین محلول در پتانسیل اسمزی صفر بار مربوط به غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان (۲۰/۶۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) و کمترین مقدار این شاخص در پتانسیل اسمزی صفر بار مربوط به کیتوزان صفر (۱۵/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بذر) مشاهده گردید. در پتانسیل‌های اسمزی ۳-، ۶- و ۹- بار مشابه سطح صفر بار پتانسیل اسمزی، بیشترین و کمترین محتوای پروتئین محلول به ترتیب مربوط به کیتوزان ۰/۵ درصد و کیتوزان صفر بود.

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 گلرنگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در شرایط تنش کم‌آبی بررسی گردید، گزارش شد که غلظت پروتئین تحت تنش کم‌آبی کاهش پیدا کرد، در حالی که پیش تیمار بذرها با غلظت پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد) سبب افزایش آن گردید (مهدوی و همکاران، ۲۰۱۳). در پژوهش لیزرراگا-پائولین[4]و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شد که تیمار با کیتوزان باعث افزایش پروتئین در ارقام ذرت گردید. نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که غلظت پروتئین‌های محلول برگ در اثر تنش خشکی در ارقام گندم پیشتاز به طور معنی‌داری کاهش یافت (طالع احمد و حداد[5]، ۲۰۱۰). نتایج پژوهش پیری[6] (۲۰۱۷) نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان پروتئین محلول بذر زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) کاهش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین محلول در سطح صفر بار و کمترین میزان این صفت در سطح ۶- بار پتانسیل اسمزی مشاهده شد. سنتز پروتئین در گیاهان در حال رشد از سازوکارهای اساسی تنظیم سوخت و ساز گیاه می‌باشد که به عنوان ترکیب اصلی آنزیم‌ها موجب افزایش توان گیاهان در پاسخ به تنش می‌باشند (پاتیل[7]، ۲۰۱۰). باجی[8]و همکاران (۲۰۰۱) و جان[9]و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که غلظت پروتئین‌های محلول در اثر تنش خشکی به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین‌ها، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسید آمینه آزاد از جمله پرولین، کاهش می‌یابد. پرایمینگ موجب ترمیم و بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک، سنتز پروتئین و همچنین ترمیم غشای سلولی می‌شود (مک دونالد[10]، ۲۰۰۰).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کیتوزان و پتانسیل اسمزی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار بود، ولی برهمکنش کیتوزان و پتانسیل اسمزی بر صفات مذکور معنی‌دار نگردید (جدول ۴). با افزایش پتانسیل اسمزی صفت درصد جوانه‌زنی روند کاهشی را نشان داد.

[1] Park
[2] Prashanth
[3] Mahdavi
[4] Lizárraga-Paulín
[5] Taleahmad and Haddad
[6] Piri
[7] Patil
[8] Bajii
[9] John
[10] Mc Donald



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر محتوای پروتئین محلول گیاه ذرت شیرین در هر سطح پتانسیل اسمزی (مقایسه میانگین با استفاده از رویه L.S.Means انجام شده و در هر سطح پتانسیل اسمزی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند).

Fig. 4. Mean comparison of the effects of different levels of chitosan on the soluble protein content of sweet corn at each level of osmotic potential. (Means comparison was done using L.S.Means procedure and at each level of osmotic potential, means with at least one common letter are not significantly different).

به‌طوری‌که کمترین کاهش درصد جوانه‌زنی (۷۰/۸۰ درصد) در پتانسیل اسمزی صفر بار و بیشترین کاهش درصد جوانه‌زنی (۳۶/۷۳ درصد) در پتانسیل اسمزی ۹- بار مشاهده گردید. طبق نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان درصد جوانه‌زنی (۵۷/۶۹ درصد) مربوط به غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان بود که با غلظت ۰/۷۵ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری نداشت. سرعت جوانه‌زنی با افزایش تنش اسمزی کاهش یافت. به‌طوری‌که از ۲۳/۸۲ بذر در روز به ۲/۶۱ بذر در روز کاهش پیدا کرد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی مربوط به غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان (۱۴/۰۲ بذر در روز) بود که با تیمار ۰/۷۵ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری نداشت؛ و همچنین کمترین میزان سرعت جوانه‌زنی در تیمار کیتوزان صفر (۹/۴۷ بذر در روز) مشاهده گردید. در این پژوهش اثر سمی غلظت ۱ درصد کیتوزان مشاهده شد و این غلظت باعث کاهش میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی نسبت به غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد کیتوزان گردید (جدول ۵).

نادری و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که با افزایش پتانسیل اسمزی درصد و سرعت جوانه‌زنی دو گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.) و زنیان (*Carum copticum* L.) کاهش یافت. دیزانگ[1] و همکاران (۲۰۰۴) نیز با آزمایش بر بذرهای خیسانده بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) در محلول کیتوزان نشان داد که کیتوزان باعث افزایش میزان جوانه‌زنی در این گیاه شد. نتایج حاصل از پژوهش تقی‌پور[2] و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان در پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار تأثیر مثبتی بر درصد و سرعت جوانه‌زنی گیاه گندم دارد. کیتوزان در غلظت‌های پایین می‌تواند جوانه‌زنی بذرهای سویا (*Glycine max* L.) را افزایش دهد درحالی که غلظت‌های بالای آن ممکن است برای بذر سمی باشد (دولایگر و همکاران، ۲۰۰۴). ران و ژو[3] (۲۰۰۲) نشان دادند که بذرهای برنجی که با کیتوزان پوشش داده شدند جوانه‌زنی سریعی داشته و کیتوزان مقاومت آنها را در برابر شرایط تنش افزایش داد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که بذر گندم پوشش داده شده با کیتوزان تحت

[1] Dzung
[2] Taghipur
[3] Ruan and Xue

شرایط تنش خشکی، باعث بهبود سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد گردید (زنگ و لو[1]، ۲۰۱۲ (الف)).

با توجه به نتایج بدست آمده از شاخص‌های بیوشیمیایی پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که کیتوزان ۰/۵ درصد نسبت به سایر غلظت‌های کیتوزان و تیمار آب مقطر باعث افزایش میزان پروتئین محلول، قندهای محلول و پرولین شد و همچنین باعث کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن گردید. درضمن در سطح کیتوزان ۰/۵ درصد بیشترین درصد و سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد؛ پس می‌توان یکی از علل بهبود صفات جوانه‌زنی در غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان را به اثرات این غلظت بر شاخص‌های بیوشیمیایی ربط داد.

چو[2]و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که کیتوزان به‌عنوان محرک رشد بذر آفتابگردان عمل می‌کند، به طوری که باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی در این گیاه گردید. جوانه‌زنی شامل مراحل متابولیک هیدرولیز آنزیمی مواد ذخیره‌ای و ساخته شدن بافت‌های جدید با استفاده از مواد هیدرولیز شده است. با افزایش پتانسیل اسمزی جذب آب و فعالیت‌های آنزیمی مربوط به فرآیندهای بیوشیمیایی جوانه‌زنی کاهش می‌یابد، بنابراین علت اصلی کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی است. کیتوزان دارای خاصیت چسبندگی سطحی است و غشایی نفوذپذیر را روی بذر به‌وجود می‌آورد که موجب افزایش جذب آب و جلوگیری از هدر رفتن رطوبت بذر می‌شود و همچنین با در دسترس قرار دادن مواد مغذی ضروری از طریق تنظیم فشار اسمزی سلول رشد گیاه را افزایش می‌دهد (زنگ[3]و همکاران، ۲۰۱۲ (ب)) و با تأثیر بر سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه سبب افزایش مقاومت گیاه تحت شرایط تنش می‌شود (گوان و همکاران، ۲۰۰۹) و با افزایش غلظت جیبرلیک اسید و ایندول استیک اسید در بذرها، میزان جوانه‌زنی را بالا می‌برد (ژو و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین مشخص شده است که غلظت‌های بالای کیتوزان به علت پوشش چسبنده‌ای که روی قسمت بیرونی بذر گیاهان ایجاد می‌کنند، ممکن است باعث جلوگیری از جذب آب توسط بذر شود (باراکا[4]و همکاران، ۲۰۰۴).

اثر کیتوزان و پتانسیل اسمزی بر میانگین مدت زمان جوانه‌زنی معنی‌دار بود، ولی برهمکنش کیتوزان و پتانسیل اسمزی بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۴). با افزایش پتانسیل اسمزی، میانگین مدت زمان جوانه‌زنی افزایش یافت، به‌طوری که میانگین مدت زمان جوانه‌زنی از ۰/۹۷ روز به ۱/۴۸ روز افزایش پیدا کرد. میزان تغییرات صفت میانگین مدت زمان جوانه‌زنی تحت غلظت‌های کیتوزان به‌گونه‌ای بود که بیشترین میزان مربوط به تیمارکیتوزان صفر (۱/۳۳ روز) بود و کمترین میزان این صفت در تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد (۱/۱۴ روز) مشاهده گردید (جدول ۵).

نتایج حاصل از پژوهشی نشان داد که بیشترین میزان صفت میانگین مدت زمان جوانه‌زنی بذر گندم در سطح شاهد (بدون پرایم با کیتوزان) و کمترین میزان در تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد مشاهده گردید (حمید[5]و همکاران، ۲۰۱۴). میانگین مدت زمان جوانه‌زنی با کیفیت توده بذر ارتباط عکس دارد. به طوری‌که هرچه میانگین مدت زمان جوانه‌زنی کمتر باشد کیفیت توده بذری بیشتر است (امیدی[6]و همکاران، ۲۰۱۴). بذرها برای آغاز فعالیت‌های خود و شروع جوانه‌زنی نیاز به آب کافی دارند. اگر بذر نتواند به‌اندازه کافی آب جذب کند یا جذب آب به‌کندی صورت گیرد، فعالیت‌های داخل بذر نیز به‌کندی صورت گرفته و مدت زمان لازم برای خروج ریشه نیز افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد در جوانه‌زنی تحت تنش شوری و خشکی به دلیل افت پتانسیل اسمزی، جذب آب مختل شده و در ادامه نیز از فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز جلوگیری می‌شود (افضل[7]و همکاران، ۲۰۰۵).

[1] Zeng and Luo
[2] Cho
[3] Zeng
[4] Barka
[5] Hameed
[6] Omidi
[7] Afzal

جدول ۴. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برخی شاخص‌های جوانه‌زنی ذرت شیرین تحت تأثیر سطوح مختلف کیتوزان و پتانسیل اسمزی

Table 4. Mean square resulted from the analysis of variance for some germination indices of sweet corn as affected by different levels of chitosan (CH) and osmotic potential (OS)

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی Mean germination time	یکنواختی جوانه‌زنی Germination uniformity	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigour index	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
کیتوزان (CH)	5	154.35**	54.77**	0.06**	1.72**	1466.61**	0.0001 ns
تنش اسمزی (OS)	3	4835.08**	1952.51**	1.06**	30.27**	51696.38**	0.002**
CH×OS	15	6.48 ns	2.39 ns	0.01 ns	0.50*	205.01**	0.0002 ns
خطای آزمایش Error	72	8.60	1.52	0.02	0.25	17.98	0.0001
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)		5.50	10.72	11.48	22.03	7.58	5.007

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

ns and ** represent not significant, significant at 5% and 1% probability, respectively.

اثر پیش تیمار کیتوزان، پتانسیل اسمزی و برهمکنش آن‌ها بر صفت ضریب یکنواختی جوانه‌زنی در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطح ۶- بار پتانسیل اسمزی برای یکنواختی جوانه‌زنی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). با افزایش پتانسیل اسمزی میزان ضریب یکنواختی جوانه‌زنی کاهش یافت. در پتانسیل اسمزی ۶- بار بیشترین مقدار ضریب یکنواختی جوانه‌زنی (۱/۲۳ روز) مربوط به تیمار آب مقطر بود و کمترین میزان این صفت (۳/۳۴ روز) در کیتوزان صفر مشاهده شد (جدول ۷). یکنواختی جوانه‌زنی یعنی تفاضل زمان رسیدن به ۱۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی به ۹۰ درصد حداکثر جوانه‌زنی محاسبه می‌شود. در یکنواختی جوانه‌زنی هرچه عدد به‌دست آمده کمتر باشد نشانگر یکنواختی بیشتر است و این صفت به‌ویژه در دوره‌های تنش به علت همزمانی در سبز کردن مزرعه می‌تواند در مدیریت مزرعه و در نهایت عملکرد نهایی دارای اهمیت باشد (سلطانی[1] و همکاران، ۲۰۰۲). در گلرنگ تحت تنش خشکی با پلی‌اتیلن‌گلایکول، تیمار شاهد بیشترین و تیمارهای ۶- و ۸- بار کمترین یکنواختی جوانه‌زنی را داشتند (سیدشریفی[2]، ۲۰۰۹). در پژوهش ترابی دشتی[3] و همکاران (۲۰۱۵) نتایج نشان داد که بیشترین میزان یکنواختی جوانه‌زنی بذر پنبه (*Gosspium hirsutum* L.) مربوط به پرایم ۱۶ و ۱۲ ساعت در آب و خشکی صفر و کمترین آن مربوط به خشکی ۹- بار بود. به نظر می‌رسد که پیش تیمار سبب سازگاری بیشتر گیاه با تنش خشکی شده و به دلیل فعالیت بهتر برخی آنزیم‌ها در بذر، قابلیت دسترسی به مواد غذایی در طول جوانه‌زنی در بذرهای پرایمینگ شده آسان‌تر شده و این بذرها قادر به کامل کردن فرایند جوانه‌زنی در شرایط تنش‌های محیطی می‌گردند (نونامی[4] و همکاران، ۱۹۹۴).

[1] Soltani

[2] Seyed Sharifi
[3] Trabideshti
[4] Nonami

جدول ۵. مقایسه میانگین اثرات پتانسیل اسمزی و کیتوزان برای برخی شاخص‌های جوانه‌زنی ذرت شیرین

Table 5. Mean comparison of the effects of osmotic potential and chitosan on some germination parameters of sweet corn

نوع تیمار	سطوح تیماری	درصد جوانه‌زنی (درصد) Germination percentage (%)	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination Rate (Seed/Day)	میانگین مدت زمان جوانه‌زنی (روز) Mean germination time (Day)	ضریب آلومتریک Allometric coefficient
پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)	0	70.80[a]	23.82[a]	0.97[d]	0.246[a]
	-3	56.11[b]	11.69[b]	1.21[c]	0.236[b]
	-6	49.34[c]	7.86[c]	1.30[b]	0.233[b]
	-9	36.73[d]	2.61[d]	1.48[a]	0.223[c]
کیتوزان (درصد) Chitosan (%)	آب مقطر Distilled water	52.19[bc]	10.55[c]	1.25[ab]	0.233[a]
	کیتوزان صفر No Chitosan	49.73[d]	9.47[d]	1.33[a]	0.232[a]
	0.25	53.58[b]	11.93[b]	1.23[abc]	0.235[a]
	0.5	57.69[a]	14.02[a]	1.14[c]	0.238[a]
	0.75	55.86[a]	13.17[a]	1.20[bc]	0.237[a]
	1	50.41[cd]	9.83[cd]	1.28[ab]	0.232[a]

در هر ستون، میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۵٪ آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each column, means with similar superscript letters are not significantly different at P<0.05 of Duncan's multiple range test

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کیتوزان و پتانسیل اسمزی و برهمکنش آن‌ها بر شاخص بنیه گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۴). تجزیه واریانس برش‌دهی نشان داد که اثر کیتوزان در سطوح (صفر، ۳- و ۶- بار) پتانسیل اسمزی برای شاخص بنیه گیاهچه معنی‌دار بود (جدول ۶). طبق نتایج مقایسه میانگین بدست آمده با افزایش پتانسیل اسمزی شاخص بنیه گیاهچه کاهش چشمگیری داشت؛ در حالی‌که غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان کاهش شاخص بنیه گیاهچه را تعدیل کرد. به‌طوری‌که در پتانسیل اسمزی صفر بار بیشترین شاخص بنیه گیاهچه (۱۵۱/۳۵) از غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان و کمترین شاخص بنیه گیاهچه (۱۰۲/۱۰) از غلظت کیتوزان صفر به‌دست آمد. در سطوح ۳- و ۶- بار پتانسیل اسمزی مشابه سطح صفر بار پتانسیل اسمزی تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد دارای بیشترین میزان و تیمار کیتوزان صفر دارای کمترین میزان شاخص بنیه گیاهچه بود (جدول ۷).

جدول ۶. تجزیه واریانس برش‌دهی تأثیر سطوح مختلف کیتوزان در هر سطح پتانسیل اسمزی برای برخی صفات جوانه‌زنی بذر ذرت شیرین

Table 6. Analysis of variance for the effect of different levels of chitosan in each level of osmotic potential using the slicing method for some germination characteristics of sweet corn seeds

پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	
		یکنواختی جوانه‌زنی Germination uniformity	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigour index
0	5	0.21 [ns]	1314.03[**]
-3	5	0.51 [ns]	600.75[**]
-6	5	2.08[**]	131.23[**]
-9	5	0.42 [ns]	35.63 [ns]

[ns] و [**] به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

[ns] and [**] represent not significant, significant at 5% and 1% probability, respectively.

در پژوهش عقیقی‌شاهوردی[1]و همکاران (۲۰۱۷) نتایج نشان داد که سطح کیتوزان ۰/۵ درصد تأثیر مثبتی بر افزایش شاخص بنیه گیاهچه ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) دارد. طبق نتایج تحقیق تقی‌پور و همکاران (۲۰۱۵) غلظت کیتوزان ۰/۵ درصد در پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار نسبت به سطح صفر کیتوزان در همین سطوح از پتانسیل اسمزی دارای شاخص بنیه گیاهچه بیشتری بود؛ که این امر نشان‌دهنده تأثیر مثبت کیتوزان بر شاخص بنیه بذر گندم در پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار می‌باشد. پرایمینگ بذر گندم با غلظت‌های کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد باعث افزایش بنیه گیاهچه نسبت به شاهد گردید (حمید و همکاران، ۲۰۱۴).

پرایم بذر منجر به افزایش شاخص بنیه گیاهچه می‌گردد. علت افزایش شاخص بنیه گیاهچه تحت پرایمینگ می‌تواند مربوط به حرکت ذخایر غذایی، فعالیت و سنتز مجدد بعضی آنزیم‌ها، شروع سنتز مجدد RNA و DNA و رشد سریع جنین بدنبال برطرف شدن موانع جوانه‌زنی در پرایمینگ اسمزی باشد (بصرا[2] و همکاران، ۲۰۰۳).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر سطوح پتانسیل اسمزی بر ضریب آلومتریک معنی‌دار بود، اما کیتوزان اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول ۴). بر اساس نتایج مقایسه میانگین با افزایش پتانسیل اسمزی ضریب آلومتریک کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین کاهش ضریب آلومتریک (۰/۲۴۶) در پتانسیل اسمزی صفر بار و بیشترین کاهش (۰/۲۲۳) در پتانسیل اسمزی ۹- بار مشاهده گردید (جدول ۵).

در پژوهش شرفی‌زاده[3] (۲۰۱۷) بیشترین صفت آلومتریک بذر جو مربوط به پتانسیل آب ۱/۵- مگاپاسکال و کمترین آن مربوط به تیمار بدون تنش بود که طبق نتایج با افزایش پتانسیل اسمزی رشد ساقه‌چه کاهش، اما رشد ریشه‌چه جهت دسترسی به رطوبت بیشتر، افزایش یافت. نتایج بدست آمده از تحقیق سید احمدی[4] (۲۰۱۳) نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش ضریب آلومتریک گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) گردید و کاهش ضریب آلومتریک به‌طور مستقیم نشان دهنده کاهش رشد ریشه‌چه و ماده خشک ریشه‌چه می‌باشد و به‌طور غیرمستقیم نشان دهنده تولید گیاهچه‌های ضعیف و بذرهای با بنیه پایین می‌باشد. ضریب آلومتریک از تقسیم میانگین طول ریشه‌چه به ساقه‌چه بدست می‌آید. در برخی از منابع، این ضریب به عنوان نمایانگر نوعی از تحمل به تنش‌ها در نظر گرفته می‌شود. اگرچه نسبت بین قسمت‌های هوایی و ریشه تحت کنترل ژنتیکی است، ولی به‌طور شدیدی تحت تأثیر محیط هم قرار می‌گیرد.

[1] Aghighi Shahverdi
[2] Basra
[3] Sharfizadeh
[4] Seyedahmadi

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کیتوزان بر برخی پارامترهای جوانه‌زنی ذرت شیرین در هر سطح تنش اسمزی

Table 7. Mean comparison of the effect of different levels of chitosan on some germination parameters of sweet corn in each level of osmotic stress

پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic potential (bar)	کیتوزان (درصد) Chitosan(%)	یکنواختی جوانه‌زنی (روز) Germination uniformity (Day)	شاخص بنیه گیاهچه Seedling vigour index
0	آب مقطر Distilled water	0.97^{b}	110.62^{cd}
	کیتوزان صفر No Chitosan	1.63^{a}	102.10^{d}
	0.25	1.09^{b}	113.59^{c}
	0.5	1.08^{b}	151.35^{a}
	0.75	1.12^{b}	125.58^{b}
	1	1.14^{b}	105.91^{cd}
-3	آب مقطر Distilled water	1.42^{a}	60.02^{c}
	کیتوزان صفر No Chitosan	2.09^{a}	44.91^{d}
	0.25	2.29^{a}	65.74^{b}
	0.5	1.44^{a}	81.35^{a}
	0.75	1.73^{a}	67.98^{b}
	1	1.98^{a}	56.18^{c}
-6	آب مقطر Distilled water	1.23^{c}	28.89^{c}
	کیتوزان صفر No Chitosan	3.34^{a}	22.55^{d}
	0.25	2.83^{ab}	31.74^{bc}
	0.5	2.20^{bc}	38.08^{a}
	0.75	2.20^{bc}	34.26^{b}
	1	2.70^{ab}	25.43^{d}
-9	آب مقطر Distilled water	4.07^{a}	11.50^{bc}
	کیتوزان صفر No Chitosan	4.05^{a}	9.20^{d}
	0.25	3.71^{ab}	13.03^{b}
	0.5	3.22^{b}	16.96^{a}
	0.75	3.76^{ab}	15.03^{b}
	1	4.04^{a}	10.01^{cd}

مقایسه میانگین با استفاده از رویه L.S.Means انجام شده و در هر سطح پتانسیل اسمزی، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means comparison was done using L.S.Menes procedure and in each level of osmotic potential, means with at least one common letter are not significantly different.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج می‌توان اظهار داشت که پیش تیمار با کیتوزان، اثرات اسمزی ناشی از پتانسیل اسمزی را تعدیل نمود. به‌طوری‌که پیش تیمار بذرهای ذرت شیرین با غلظت کیتوزان ۰/۵ درصد اثر مثبتی بر شاخص‌های جوانه‌زنی داشت و با تأثیر بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی گیاه باعث افزایش تحمل گیاهچه‌های ذرت شیرین تحت تنش اسمزی شد.

منابع

Afzal, I., Basra, S.A., Iqbal, A.J. and Biochemistry. 2005. The effects of seed soaking with plant growth regulators on seedling vigor of wheat under salinity stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 1(1): 6-14.

Aghighi Shahverdi, M., Omidi, H. and Mousavi, S.E. 2017. Effect of chitosan on seed germination and biochemical traits of milk thistle (*Silybum marianum*) seedling under salt stress. Iranian Journal of Seed Research, 3(2): 105-118. [In Persian with English Summary]. https://doi.org/10.29252/yujs.3.2.105

Akramian, M., Hosseini, A., Kazerooni, M. and Rezvani, M.J. 2007. Effect of seed osmopriming on germination and seedling development of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Field Crop Research, 5(1): 37-46. [In Persian with English Summary].

Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S.J. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany, 80(3): 297-304. https://doi.org/10.1139/b02-008

Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J.M. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science, 160(4): 669-681. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(00)00443-X

Barka, E.A., Eullaffroy, P., Clément, C. and Vernet, G.J. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. Against botrytis cinerea. Plant Cell Reports, 22(8): 608-614. https://doi.org/10.1007/s00299-003-0733-3

Basra, S.M., Ullah, E., Warriach, E., Cheema, M. and Afzal, I. 2003. Effect of storage on growth and yield of primed canola (*Brassica napus*) seeds. International Journal of Agriculture and Biology, 5(2): 117-120.

Behboudi, F., Tahmasebi Sarvestani, Z., Kassaee, M.Z., Modares Sanavi, S.A.M., Sorooshzadeh, A. and Ahmadi, S.B. 2018. Evaluation of chitosan nanoparticles effects on yield and yield components of barley (*Hordeum vulgare* L.) under late season drought stress. Journal of Water and Environment Nanotechnology, 3(1): 22-39.

Bradford, K.J. 1995. Water relations in seed germination. Seed Development and Germination, Marcel Dekker Inc., New York, 37: 291-295.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Cho, M., No, H. and Prinyawiwatkul, W.J. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. Journal of Food Science, 73(1): 70-77. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00607.x

Copeland, L.O. and McDonald, M.B. 2001. Principles of Seed Science and Technology. 4th. ed., Springer Science+Buisiness Media, LLC. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1619-4

Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J.J. 2004. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology, 21(6): 703-714. https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.008

Dzung, N. and Thang, N. 2004. Effect of chitooligosaccharides on the growth and development of peanut (*Arachis hypogea* L.). In: Proceedings of the Sixth Asia-Pacific on Chitin, Chitosan Symposium. (ed.) Khor, E., Hutmacher, D. and Yong, LL Singapore, ISBN. pp: 905-981.

Eskandarnejad, S., Khavari Khorasani, S., Bakhtiari, S. and Heidaria, A. 2013. Effect of row spacing and plant density on yield and yield components of sweet corn (*Zea mays* L.) varieties. Advanced Crop Science, 3(1): 81-88. [In Persian].

Gornik, K., Grzesik, M. and Romanowska-Duda, B. 2008. The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 16: 333-343.

Guan, Y.J., Hu, J., Wang, X.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, 10(6): 427-433. https://doi.org/10.1631/jzus.B0820373

Guo, Z., Ou, W.z., Lu, S.y. and Zhong, Q.J. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 44(11-12): 828-836. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2006.10.024

Hadwiger, L., Klosterman, S. and Choi, J.J. 2002. The mode of action of chitosan and its oligomers in inducing plant promoters and developing disease resistance in plants. Advance in Chitin Science, 5: 452-457.

Hameed, A., Sheikh, M., Hameed, A., Farooq, T., Basra, S. and Jamil, A.J. 2014. Chitosan seed priming improves seed germination and seedling growth in wheat (*Triticum aestivum* L.) under osmotic stress induced by polyethylene glycol. Philippine Agricultural Scientist, 97(3): 294-299.

Heath, R.L., Packer, L.J. and biophysics. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189-198. https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1

International Seed Testing Association (ISTA). 2010. International rules for seed testing. Bassersdorf, Switzerland.

Irigoyen, J., Einerich, D. and Sánchez-Díaz, M.J. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (Medicago sativa) plants. Physiologia Plantarum, 84(1): 55-60. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1992.840109.x; https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x

Iturbe-Ormaetxe, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C. and Becana, M.J. 1998. Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. Journal of Plant Physiology 116(1): 173-181. https://doi.org/10.1104/pp.116.1.173

John, R., Ahmad, P., Gadgil, K. and Sharma, S.J. 2009. Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by (*Brassica juncea* L.). International Journal of Plant Production, 3(3): 65-76.

Joker, N. KH. and Noorhosseini, S.A. 2107. Improvement of germination and early growth of corn (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) with hydroperiming. Journal of Seed Science, 7(1): 1-7. [In Persian].

Kovacik, J., Gruz, J., Backor, M., Strnad, M. and Repcak, M.J. 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in Matricaria chamomilla plants. Plant Cell Reports, 28(1): 135-143. https://doi.org/10.1007/s00299-008-0627-5

Kowalski, B., Terry, F.J., Herrera, L. and Peñalver, D.A. 2006. Application of soluble chitosan in vitro and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers. American Journal of Potato Research, 49(3): 167-176. https://doi.org/10.1007/s11540-006-9015-0

Laspina, N., Groppa, M., Tomaro, M. and Benavides, M.J. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against cd-induced oxidative stress. Plant Science, 169(2): 323-330. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.007

Lizárraga-Paulín, E.G., Miranda-Castro, S.P., Moreno-Martínez, E., Lara-Sagahón, A.V. and Torres-Pacheco, I.J. 2013. Maize seed coatings and seedling sprayings with chitosan and hydrogen peroxide: Their influence on some phenological and biochemical behaviors. Journal of Zhejiang University Science, 14(2): 87-96. https://doi.org/10.1631/jzus.B1200270

Loreto, F. and Velikova, V. 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. Plant Physiology, 127(4): 1781-1787. https://doi.org/10.1104/pp.010497

Ma, L., Li, Y., Yu, C., Wang, Y., Li, X., Li, N., Chen, Q. and Bu, N. 2012. Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. Protoplasma, 249(2): 393-399. https://doi.org/10.1007/s00709-011-0290-5

Mahdavi, B. And Safari, h. 2105. Effect of chitosan on growth and some physiological characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salt stress conditions. Journal of Plant Process and Function, 4(12): 117-127. [In Persian with English Summary].

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M., Sharifi, M. and Dolatabadian, A.J. 2011. Chitosan improves osmotic potential tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. Journal of Crop Improvement, 25(6): 728-741. https://doi.org/10.1080/15427528.2011.606354

Mahdavi, B., Modarres Sanavy, S.S., Aghaalikhani, M. and Sharifi, M. 2013. Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed germination and antioxidant enzymes activity under water stress. Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology), 26(3): 352-365. [In Persian with English Summary].

Martínez, G., Reyes, G., Falcón, R. and Núñez, V.J. 2015. Effect of seed treatment with chitosan on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings cv. Inca lp-5 in saline medium Cultivos Tropicales, 36(1): 143-150.

Mc Donald, M. B. 2000. Seed priming. In Seed Technology and its Biological Basis (Black, M. and Bweley, J.D. (eds.). Sheffield Academic press Ltd., Sheffieid. pp. 287-325.

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Journal of Plant Physiology, 51(5): 914-916. https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914

Miller, T. and Chapman, S.J. 1978. Germination responses of three forage grasses to different concentration of six salts. Journal of Range Management, 31(2): 123-124. https://doi.org/10.2307/3897659

Naderi, S., Fakheri, B.A. and Bahrami, M. 2014. Effect of chitosan on some physiological and biochemical indices of (*Carum copticum* L.). Agricultural Research in the Arid Areas, 1(2): 187-201. [In Persian with English Summary].

No, H.K., Meyers, S.P., Lee, K.S. and Chemistry, F. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 37(3): 575-579. https://doi.org/10.1021/jf00087a001

Nonami, H., Tanimoto, K., Tabuchi, A., Fukuyama, T., Hashimoto, Y.J. and 396, T.P. 1994. Salt stress under hydroponic conditions causes changes in cell wall extension during growth. Hydroponics and Transplant Production, 396: 91-98. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1995.396.9

Oktem, A., Oktem, A. and Emeklier, H.J. 2010. Effect of nitrogen on yield and some quality parameters of sweet corn. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 41(7): 832-847. https://doi.org/10.1080/00103621003592358

Oktem, H.A., Eyidoðan, F., Demirba, D., Bayraç, A.T., Öz, M.T., Özgür, E., Selçuk, F., Yücel, M.J. and biotechnology. 2008. Antioxidant responses of lentil to cold and drought stress. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 17(1): 15-21. https://doi.org/10.1007/BF03263254

Omidi, H., Leyla, J. and Hasanali, N. 2014. Seeds of Medicinal Plants and Crops. Pp.189-269. [In Persian].

Pagter, M., Bragato, C., Malagoli, M. and Brix, H.J. 2009. Osmotic and ionic effects of NaCl and Na_2SO_4 salinity on Phragmites australis. Aquatic Botany, 90(1): 43-51. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.05.005

Park, P.J., Je, J.Y. and Kim, S.K. 2004. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. Carbohydrat Polymers, 55(1): 17-22. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.05.002

Patil, M.N. 2010. Biofertilizer effect on growth, protein and carbohydrate content in *Stevia rebaudiana* var Bertoni. Science and Technology, 2(10): 42-44.

Piri, R. 2017 Effect of bio-priming and seed coating on some seed germination and seedling growth indices of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under drought stress. M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Iran. [In Persian with English Summary].

Pospieszny, H., Chirkov, S. and Atabekov, J.J. 1991. Induction of antiviral resistance in plants by chitosan. Plant Science, 79(1): 63-68. https://doi.org/10.1016/0168-9452(91)90070-O

Pquine, R. and Lechasseur, P.J. 1979. Observations sur une method dosage la libre dans les de plantes. Canadian Journal of Botany, 57: 1851-1854. https://doi.org/10.1139/b79-233

Prashanth, K.V.H., Dharmesh, S.M., Rao, K.S.J. and Tharanathan, R.N. 2007. Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. Carbohydrate Research, 342(2): 190-195. https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.11.010

Rattin, J., Di Benedetto, A. and Gornatti, T. 2006. The effect of transplant in sweet maize (*Zea mays* L.) Growth and yield. Journal of Agricultural Research, 1(1): 58-67. https://doi.org/10.3923/ijar.2006.58.67

Reddy, Y. and Khan, M.J. 2001. Effect of osmopriming on germination, seedling growth and vigour of khirni (*Mimusops hexandra*) seeds. Seed Science Research, 29(1): 24-27.

Ruan, S. and Xue, Q.J. 2002. Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of seedling in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). Acta Agronomica Sinica, 28(6): 803-808.

Seyed Sharifi, R. 2009. Effects of PEG on germination and seedling growth of safflower varieties. Iranian Journal of Biology, 21(3): 400-410. [In Persian with English Summary].

Seyedahmadi, S.A. 2013. Evaluation of germination and seedling components of rape seed from heat and drought stress in growth season. Journal of Crop Ecophysiology, 5(17): 61-75. [In Persian with English Summary].

Shao, C., Hu, J., Song, W. and Hu, W.J. 2005. Effects of seed priming with chitosan solutions of different acidity on seed germination and physiological characteristics of maize seedling. Journal of Agriculture and Life Science, 31(6): 705-708.

Sharfizadeh, M. 2017. Effect of salicylic acid and drought stress on seed germination barley. Journal of Seed Science and Technology, 6(2): 161-169. [In Persian with English Summary].

Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E. and Latifi, N.J. 2002. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Journal of Seed Science and Technology, 30(1): 51-60.

Soltani, A., Zeinali, E., Galeshi, S. and Latifi, N.J. 2001. Genetic variation for and interrelationships among seed vigor traits in wheat from the Caspian Sea coast of Iran. Journal of Seed Science and Technology, 29(3): 653-662.

Sukwattanasinitt, M., Klaikherd, A., Skulnee, K. and Aiba, S. 2001. Chitosan as a Releasing Device for 2,4-D herbicide. Chitin and Chitosan in Life Science, Ya- Maguchi Japan, pp: 198-201.

Taghipur, Z., Maqsudi, A. and Asghari Zakaria, R. 2015. Effect of chitosan on germination and wheat seedling growth (*Triticum aestivum* L.) under drought stress conditions. Journal of Seed Science, 5(3): 65-75. [In Persian].

Taleahmad, S. and Haddad, R.J.S. 2010. Effect of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. Journal of Plant Seed, 26(2): 207-225.

Trabideshti, A., Soltani, A. and Pakneghad, F. 2015. Evaluation of the effect of seed priming on germination rate characteristics of new varieties of cotton (*Gosspium hirsutum* L.) at different levels of drought stress. Journal of Seed Science, 5(4): 1-8. [In Persian].

Weber, H., Chételat, A., Reymond, P. and Farmer, E.E. 2004. Selective and powerful stress gene expression in arabidopsis in response to malondialdehyde. The Plant Journal, 37(6): 877-888. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2003.02013.x

Xiao, C., Wang, X., Xia, J. and Liu, G.J. 2010. The effect of temperature, water level and burial depth on seed germination of *Myriophyllum spicatum* and *Potamogeton malaianus*. Aquatic Botany, 92(1): 28-32. https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.09.004

Zeng, D. and Luo, X.J. 2012 (a). Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. Soil Science, 2(3): 282-288. https://doi.org/10.4236/ojss.2012.23034

Zeng, D., Luo, X. and Tu, R. 2012 (b). Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection. International Journal of Carbohydrate Chemistry, 1-5. https://doi.org/10.1155/2012/104565

Zhou, Y., Yang, Y., Qi, Y., Zhang, Z., Wang, X. and Hu, X.J. 2002. Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. Journal of Peanut Science, 31(1): 22-25.

Iranian Journal of Seed Research, 2020, 7(1): 1-22

Research Article

Effect of Different Chitosan Concentrations on Seed Germination and Some Biochemical Traits of Sweet Corn (*Zea mays* var. Saccharata) Seedling under Osmotic Stress Conditions

Roya Behboud [1], Ali Moradi [2,*], Hooshang Farajee [2]

Extended Abstract

Introduction: Sweet corn (*Zea mays* var. saccharata) is a corn variety that is distinguished from other varieties due to the presence of genes that affect starch production in the endosperm. Given that the most of plants including sweet corn face with problems such as non- uniform germination and poor seed emergence in the early stages of germination. Thus, the use of organic stimulants is one of the ways to reduce the harmful effects of non-biological stresses, increase seed germination, uniform appearance and increase their yield and quality. The present study was carried out to investigate the effect of different concentrations of chitosan on seed germination and some biochemical traits of sweet corn under osmotic potential conditions.

Materials and Methods: To investigate the effect of chitosan and osmotic stress on germination and biochemical parameters of sweet corn, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications at the Seed Technology Laboratory, Faculty of Agriculture, Yasouj University in 2017. The first factor was osmotic stress at 0, -3, -6, and -9 bar osmotic potentials and the second factor was pre-treatment at five levels of chitosan zero, 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1% and one level of distilled water. The seeds were immersed in the desired solutions of chitosan for 3 hours at 25 °C and under dark conditions, and then the pre-treated seeds were germinated under standard germination condition. In each petri dish, 25 seeds were placed on a filter paper and osmotic potential was applied using polyethylene glycol 6000. Seed germination was carried out in the germinator at 25 ± 1 ° C for 7 days under dark conditions. The germination traits and biochemical traits were measured according to standard methods.

Results: Osmotic stress reduced germination percentage and germination rate, seedling vigour length index, germination uniformity coefficient, allometric coefficient, and soluble protein content and also increased the mean germination time, proline, soluble sugar content and hydrogen peroxide. Pre-treatment of seeds with a concentration of 0.5% chitosan increased protein, proline, and soluble sugars content at all osmotic stress levels. At the osmotic stress levels, the highest and lowest levels of hydrogen peroxide respectively were observed in 0.5% chitosan treatment and distilled water treatment. The results showed that pre-treatment with 0.5% chitosan increased germination percentage and rate and seedling vigour length index, and also reduced the mean germination time and malondialdehyde. Pre-treatment of seed with zero and 1% chitosan led to reduction in some of the germination and biochemical traits in comparison with 0.25, 0.5, and 0.75% chitosan.

Conclusions: The results showed that seed treatment with 0.5% chitosan could reduce the harmful effects of osmotic potential on some germination and biochemical traits in sweet corn seedlings and improve seedling growth.

Keywords: Allometric coefficient, Malondialdehyde content, Proline, Seed vigour

***Highlights*:**

1-Chitosan increases the germination percentage and germination rate.
2-Chitosan increases soluble sugars, proline, and soluble protein.
3-Chitosan reduces the amount of malondialdehyde and hydrogen peroxide.

[1] M.Sc. Student Department of Agronomy and Plant Breeding, Yasouj University, Yasouj, Iran
[2] Associate Professor of Agronomy and Plant Breeding, Yasouj University, Yasouj, Iran

[*] Corresponding author, E-mail: amoradi@yu.ac.ir

(Received: 17.02.2019; Accepted: 15.08.2019)

http://dorl.net/dor/20.1001.1.23831251.1399.7.1.5.2

http://dx.doi.org/10.29252/yujs.7.1.1