

## اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در شرایط تنش کم آبی

بتول مهدوی<sup>۱</sup>، سید علی محمد مدرس ثانوی<sup>۱\*</sup>، مجید آقا علیخانی<sup>۱</sup> و مظفر شریفی<sup>۲</sup>

۱- تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

۲- تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۱

### چکیده

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵، ۱، ۲، ۳ درصد همراه با تیمار اضافی آب مقطر بر جوانه زنی و رشد گیاهچه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش کم آبی (۰، -۴، -۸، -۱۲ بار) آزمایشی در شرایط محیطی کنترل شده انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش تنش، درصد جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه و محتوی پروتئین کاهش یافت. با تشدید تنش به سطح ۸- بار، میزان پرولین، محتوی مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز گیاهچه‌ها افزایش یافت. بیشترین طول و وزن خشک ساقه‌چه در غلظت ۰/۴ درصد کیتوزان مشاهده شد که نسبت به تیمار آب به ترتیب ۱۹/۳ و ۳۶ درصد افزایش نشان دادند. در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان میزان پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌ها افزایش یافتند در حالی که محتوی مالون دی‌آلدئید کاهش نشان داد. در پتانسیل اسمزی ۸- بار، بیشترین درصد جوانه زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در غلظت ۰/۴ درصد کیتوزان به دست آمد. در این پتانسیل اسمزی کاهش میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و افزایش پروتئین گیاهچه‌ها در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب مشاهده شد. با افزایش پتانسیل اسمزی در محیط جوانه‌زنی به ۱۲- بار، درصد جوانه زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان در مقایسه با تیمار آب افزایش یافتند. همچنین در این سطح تنش کم آبی کمترین مقدار این صفات از غلظت‌های ۱ تا ۳ درصد کیتوزان به دست آمد. به این ترتیب می‌توان اظهار داشت که پیش تیمار بذر گلرنگ با کیتوزان در غلظت‌های ۰/۴ و پایین تر از آن درصد جوانه‌زنی را بهبود بخشیده و اثر تنش کم آبی بر پارامترهای جوانه‌زنی را تعدیل می‌کند.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پرولین، فعالیت آنزیمی، کیتوزان، گلرنگ

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۴-۴۴۵۸۰۴۸۱-۰۲۱، پست الکترونیکی: modaresa@yahoo.com

### مقدمه

پلیمری از N- استیل گلوکوزامین است و با پروتئین‌ها و ترکیبات آلی دیگر همراه می‌باشد. این ماده، ترکیب اصلی دیواره‌های سلولی برخی جانوران از جمله خانواده خرچنگ مانند میگو، خرچنگ و خرچنگ خاردار، حشرات، پاتوزنهای گیاهی و میکروارگانسیم‌ها را تشکیل می‌دهد. بعد از سلولز، کیتین دومین پلیمر زیستی فراوان موجود در طبیعت است، که کاربردهای متعدد صنعتی،

خشکی، مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید موفقیت‌آمیز محصولات زراعی در سراسر جهان به حساب می‌آید، به طوری که تأثیرات زیان باری بر رشد رویشی و زایشی گیاهان دارد (۴۳). به علاوه انتظار می‌رود تغییرات اقلیمی، اثرات شدیدی روی شدت و فراوانی خشکیها در آینده داشته باشند (۱۷ و ۲۹). کیتین که یکی از فراوان‌ترین پلی‌ساکاریدهای موجود در طبیعت می‌باشد، زنجیره

در اکوسیستم‌های زراعی مناطق خشک باشد (۲۱). اگر چه گلرنگ به خشکی مقاوم است، جوانه‌زنی آن به طور قابل توجهی تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد. برای مثال گزارش شده که در گیاهان گلرنگ درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه تحت تأثیر تنش آب، کاهش یافت (۱۹). یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در حصول عملکرد مطلوب، استقرار مناسب گیاه در مزرعه است که خود وابسته به مرحله جوانه‌زنی می‌باشد. این مرحله به شدت از تنش‌های محیطی به ویژه تنش کم آبی، تأثیر می‌پذیرد. با توجه به این موارد و همچنین اهمیت گیاه گلرنگ به عنوان یک دانه روغنی و دارویی، انجام این تحقیق جهت بهبود جوانه‌زنی آن، ضروری به نظر می‌رسد.

#### مواد و روشها

این تحقیق با استفاده از امکانات محیط کنترل شده در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه تربیت مدرس به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. عامل اول مقدار کیتوزان در ۹ سطح شامل ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد کیتوزان (محلول در استیک اسید ۱ درصد) همراه با تیمار اضافی آب مقطر (به عنوان شاهد) و عامل دوم تنش کم آبی در ۴ سطح (۰، ۴-، ۸- و ۱۲- بار) بود. بدین منظور بذرهای گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) (رقم گلدشت) در غلظت‌های مختلف محلول‌های کیتوزان و آب مقطر برای ۳ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شد. سطوح مختلف پتانسیل آب مورد نظر برای اعمال تنش کم آبی با استفاده از نمک پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG6000) طبق دستورالعمل میچل و کافمن (۳۰) تهیه گردید. برای تمام تیمارها در هر ۳ تکرار ۲۵ عدد از بذرهای تیمار شده با کیتوزان و آب، به پتری دیشه‌های استریل حاوی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ انتقال یافت. به هر یک از پتری دیشه‌ها ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های پلی اتیلن گلیکول با سطح مورد نظر اضافه شد و در ژرمیناتور با دمای ۲۰ درجه سانتی

دارویی و کشاورزی برای آن گزارش شده است (۳، ۳۲، ۳۳، ۴۸ و ۵۴). کیتوزان یک پلی‌ساکارید گلوکوزامین مشتق شده از کیتین است. معمولاً کیتوزان به کیتینی که بیش از ۵۰ درصد گروه‌های استیل آن حذف شده باشد اطلاق می‌گردد (۳۱). در کشاورزی از کیتوزان برای پوشش دادن بذر، برگ و میوه (۱۲) استفاده می‌شود. همچنین به عنوان کود و در کنترل آزادسازی ترکیبات شیمیایی سموم (۴۱)، برای افزایش تولید گیاه، تحریک ایمنی گیاه (۱۵)، محافظت گیاهان در مقابل میکروارگانیسم‌ها (۳۶) و تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه به کار می‌رود.

اثر تحریک کنندگی کیتوزان بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گندم (۵۱)، ذرت (۵۲) و بادام زمینی (۵۳) مشخص شده است. در مطالعات اخیر، اثر مثبت کیتوزان روی رشد ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌های گیاهان مختلف از جمله ژبربا (*Gerbera jamesonii*) (۴۹) و چند گیاه دیگر مشاهده شده است (۹). اثر کیتوزان روی رشد گیاه *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn نیز نشان داده شده است (۳۳). کیتوزان همچنین رشد گیاهان مختلف از قبیل کلم (۱۸)، جوانه‌های سویا (۲۶) و ریحان (۲۳) را تحریک می‌کند. لی و همکاران (۲۵) اظهار داشتند که تیمار کیتوزان عملکرد و به طور قابل توجهی رشد جوانه‌های سویا را افزایش داد. به هر حال مکانیزم عمل کیتوزان روی رشد ناشناخته باقی مانده است. احتمالاً کیتوزان ممکن است سیگنالی را برای سنتز هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلین القاء کند و رشد و نمو گیاه را توسط بعضی مسیرهای سیگنالینگ مربوط به بیوستز اکسین، از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان، افزایش دهد (۴۶). تیمار گیاهان برنج با کیتوزان قبل از تنش کم آبی خسارت تنش خشکی در این گیاه را کاهش داده است. این تأثیر به تولید متابولیت‌های ثانویه توسط برنج که سبب بسته شدن روزنه‌های گیاه و کاهش تعرق می‌شوند نسبت داده شده است (۶). گلرنگ به علت توانایی رشد در شرایط تنش آب و ارزش اقتصادی روغن و بذر آن می‌تواند یک گیاه مناسب

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش ککمک و هورست (۸) انجام شد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی، بافر و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۱۰ میلی مولار بود. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر پیگیری و به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد.

**پروتئین:** میزان پروتئین گیاهچه‌ها نیز طبق روش برادفورد (۷) تعیین شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از محلول برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از گذشت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد.

از نرم افزار SAS برای تجزیه آماری داده‌ها استفاده و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در آنالیز واریانس (ANOVA) مقایسه میانگینها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) صورت گرفت.

### نتایج

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که تنش کم آبی بر کلیه صفات مورد ارزیابی تأثیر گذاشته است ( $P < 0.01$ ) همچنین پرایمینگ بذر گلرنگ با کیتوزان سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در پارامترهای جوانه‌زنی شد. به طوری که با افزایش سطح تنش کم آبی، درصد جوانه‌زنی به طور معنی‌داری کاهش یافت یعنی از ۸۳/۱ درصد در تیمار بدون تنش به ۴۱/۱ درصد در تنش کم آبی با پتانسیل آب ۱۲- بار رسید. آغشتن بذرها با کیتوزان ۰/۴ درصد کیتوزان در مقایسه با دو تیمار آب و استیک اسید تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد، اما از سطح ۰/۵ به بعد کاهش معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۲). در شرایط بدون تنش هر دو تیمار از نظر درصد جوانه‌زنی با سطوح مختلف کیتوزان تفاوت معنی‌داری نداشتند. در تنش ۴- بار بیشترین درصد

گراد گذاشته شد. هشت روز بعد، تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش، و طول ریشه‌چه، ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه‌گیری شد. برای خشک کردن نمونه‌ها، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای سنجش فعالیت آنزیمها، پرولین و تعیین میزان پراکسیداسیون لیپیدی، گیاهچه‌ها در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس (۵) استفاده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از غلظتهای مشخص پرولین خالص در منحنی استاندارد به عنوان شاهد در طول موج ۵۲۰ نانومتر بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ محاسبه گردید. مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با روش دوس (۱۱) اندازه‌گیری شد. میزان MDA نمونه‌ها با اندازه‌گیری جذب در طول موجهای ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ( $\epsilon = 155 \mu\text{M}^{-1}\text{cm}$ ) محاسبه گردید.

**عصاره‌گیری برای سنجش فعالیت آنزیمی و پروتئین:** ۰/۲ گرم از بافت گیاهی تازه منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار، pH= ۶/۸ در دمای ۴-۰ درجه سانتی‌گراد ساییده و عصاره‌گیری شد و سپس همگنای حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیمها و پروتئینها مورد استفاده قرار گرفت.

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:** سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر طبق روش پاندولفینی و همکاران (۳۴) انجام شد. در این روش از بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۵ مولار در حضور گایاکول با غلظت نهایی ۲۸ میلی مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی مولار استفاده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

در تنش ۱۲- بار در غلظت ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد بیشتر از تیمار آب مقطر و استیک اسید بود بنابراین با افزایش تنش به ۱۲- بار این صفت در غلظتهای پایین کیتوزان نسبت به تیمار آب مقطر و استیک اسید افزایش یافت (جدول ۳).

طول ساقه‌چه با افزایش سطوح تنش به طور معنی‌داری کاهش یافت. تنش کم آبی ۱۲- بار نسبت به تیمار آب مقطر ساقه‌چه را ۹۵/۶ درصد کاهش داد. طول ساقه‌چه در سطح کیتوزان ۰/۴ درصد حداکثر بود که نسبت به تیمار آب افزایش نشان داد. حداقل طول ساقه‌چه در سطح کیتوزان ۳ درصد به دست آمد (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، این صفت در سطوح مختلف کیتوزان با تیمار آب و اسید استیک اختلاف معنی‌داری نداشت. تحت تنش ۴- بار، طول ساقه‌چه در سطح کیتوزان ۳ درصد نسبت به تیمار آب و اسید استیک کاهش یافت در حالی‌که این صفت در سطوح دیگر کیتوزان اختلاف معنی‌داری با این دو تیمار نداشت. طول ساقه‌چه در شرایط تنش ۸- بار، در سطح کیتوزان ۲ و ۳ درصد نسبت به تیمار آب و اسید استیک کاهش یافت و در سطوح دیگر کیتوزان اختلاف معنی‌داری با این دو تیمار نداشت. در شرایط تنش ۱۲- بار، بیشترین طول ساقه‌چه در سطوح کیتوزان ۰/۰۵ و ۰/۴ درصد مشاهده شد در حالی‌که تیمارهای آب و استیک اسید و بقیه سطوح کیتوزان غیر از ۰/۱ و ۰/۲ ساقه‌چه‌ای تولید نکردند (جدول ۳).

مقایسه میانگین طول ریشه‌چه در سطوح پتانسیل اسمزی حاکی از آن بود که بیشترین طول ریشه‌چه در تیمار شاهد (صفر بار) به دست آمد و با افزایش پتانسیل اسمزی طول ریشه‌چه کاهش یافت. طول ریشه‌چه در سطوح کیتوزان ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد نسبت به تیمار آب و استیک اسید افزایش یافت در حالی‌که از سطح ۰/۵ درصد به بعد کاهش یافت (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، طول ریشه‌چه در غلظتهای مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب و استیک اسید نداشتند. وقتی گیاهچه‌ها در معرض تنش ۴-

جوانه‌زنی در تیمار آب مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار استیک اسید و غلظتهای مختلف کیتوزان، غیر از ۰/۲ و ۳ درصد نداشت. بیشترین درصد جوانه‌زنی در تنش ۸- بار در غلظت کیتوزان ۰/۴ درصد و کمترین آن در غلظت ۲ درصد کیتوزان مشاهده شد. در تنش ۱۲- بار درصد جوانه‌زنی در غلظتهای ۰/۴ و ۰/۰۵ درصد کیتوزان بیشترین و در غلظت ۱ درصد کمترین بود. در این سطح تنش، تیمار بذرها با غلظتهای ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد کیتوزان درصد جوانه‌زنی را بیشتر از تیمار آب افزایش دادند در حالی‌که تفاوت معنی‌داری با تیمار استیک اسید نداشتند. همچنین درصد جوانه‌زنی در غلظتهای ۱ تا ۳ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب و استیک اسید کاهش یافت (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات نشان داد که شاخص جوانه‌زنی در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار کمترین مقدار بود که از نظر آماری با بقیه سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. در غلظت کیتوزان ۰/۰۵ بیشترین شاخص جوانه‌زنی مشاهده شد. سطوح کیتوزان ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار آب مقطر نداشتند اما از سطح ۰/۵ درصد به بعد کاهش معنی‌داری مشاهده شد. شاخص جوانه‌زنی در سطح کیتوزان ۰/۰۵ درصد نسبت به تیمار استیک اسید بیشتر و از سطح ۰/۱ تا ۰/۵ اختلاف معنی‌داری با تیمار استیک اسید نداشت. در سطوح کیتوزان ۱ و ۳ شاخص جوانه‌زنی نسبت به تیمار استیک اسید کاهش یافت (جدول ۲).

در شرایط بدون تنش، تیمار آب مقطر بیشترین و تیمار استیک اسید، غلظت ۰/۱، ۰/۴ و ۱ کیتوزان کمترین شاخص جوانه‌زنی را داشتند. در تنش ۴- بار بیشترین شاخص جوانه‌زنی در تیمار آب مقطر و غلظت ۰/۱ کیتوزان و کمترین آن در غلظت ۳ بار کیتوزان مشاهده شد. شاخص جوانه‌زنی در تنش ۸- بار در غلظتهای ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار آب مقطر و استیک اسید نداشت اما از غلظت ۰/۵ درصد به بعد کاهش معنی‌داری در این صفت مشاهده شد. شاخص جوانه‌زنی

آب و اسید استیک نداشت (جدول ۲). وزن خشک ریشه چه در پتانسیل اسمزی صفر، در مقادیر مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب نداشت. در این شرایط حداقل وزن خشک ریشه چه در تیمار اسید استیک مشاهده شد. در پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار، وزن خشک ریشه چه در مقادیر مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب و اسید استیک نداشت. در شرایط تنش ۱۲- بار، بیشترین وزن خشک ریشه چه، در سطوح کیتوزان ۰/۰۵ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سطوح کیتوزان ۰/۴، ۰/۱ درصد و تیمار اسید استیک نداشت (جدول ۳).

با افزایش تنش کم آبی به ۸- بار، میزان پرولین افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین در غلظت کیتوزان ۰/۲ درصد مشاهده شد که نسبت به تیمار آب و اسید استیک افزایش یافت. میزان این صفت در غلظت‌های ۰/۴ تا ۳ درصد کیتوزان با تیمار آب اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در شرایط بدون تنش بیشترین میزان پرولین در غلظت کیتوزان ۰/۲ درصد مشاهده گردید. در این شرایط میزان پرولین در غلظت‌های ۱ تا ۳ درصد کیتوزان یکسان و با تیمار آب و اسید استیک اختلاف معنی‌داری نداشت. در پتانسیل اسمزی ۴- بار، میزان پرولین در غلظت‌های ۰/۱ تا ۰/۴ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب اختلاف معنی‌داری نداشت در حالی که در غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ درصد کیتوزان افزایش یافت. کمترین میزان این صفت در غلظت کیتوزان ۰/۰۵ درصد مشاهده گردید که نسبت به تیمار آب ۴۲/۳۱ درصد کاهش نشان داد. میزان پرولین در گیاهچه‌های تحت پتانسیل اسمزی ۸- بار در غلظت‌های ۱ تا ۲ درصد کیتوزان افزایش یافت که نسبت به تیمار آب اختلاف معنی‌داری نداشت. اما در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد کیتوزان این صفت کاهش یافت. پیش تیمار بذر با کیتوزان ۰/۱ درصد در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار سبب کاهش اثر مضر تنش شده و پرولین گیاهچه‌ها را کاهش داد (جدول ۳).

بار قرار گرفتند، طول ریشه چه در سطح کیتوزان ۰/۲ درصد بیشترین مقدار داشت و کمترین مقدار آن مربوط به تیمار اسید استیک بود که با سطوح ۰/۵ تا ۳ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری نداشت. طول ریشه چه در شرایط تنش ۸- بار در سطح کیتوزان ۰/۴ درصد بیشترین و ۲ و ۳ درصد کمترین بود. در سطح تنش ۱۲- بار، بیشترین طول ریشه چه در سطح کیتوزان ۰/۰۵ درصد مشاهده شد که با سطوح ۰/۱ تا ۰/۵ اختلاف معنی‌داری نداشت. در این سطح تنش، در سطوح ۱ و ۲ درصد کیتوزان، هیچ ریشه چه‌ای تولید نشد (جدول ۳).

مقایسه میانگین صفات بررسی شده نشان داد که وزن خشک ساقه چه در پتانسیل اسمزی صفر و ۴- بار بیشترین بود و با افزایش پتانسیل اسمزی از ۴- بار مقدار آن کاهش می‌یابد به طوری که در ۱۲- بار حداقل وزن خشک ساقه چه مشاهده شد. بیشترین وزن خشک ساقه چه در سطح کیتوزان ۰/۴ درصد مشاهده شد که با تیمار آب و اسید استیک اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، وزن خشک ساقه چه در مقادیر مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب نداشت. در این شرایط حداقل وزن خشک ساقه چه در تیمار اسید استیک مشاهده شد. در پتانسیل اسمزی ۴- و ۸- بار، وزن خشک ساقه چه در مقادیر مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب و اسید استیک نداشت. بیشترین وزن خشک ساقه چه در شرایط تنش ۱۲- بار، در سطوح کیتوزان ۰/۴ درصد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سطوح کیتوزان ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد نداشت. در حالی که در تیمارهای آب و اسید استیک و سطوح کیتوزان ۰/۵ به بالا ساقه چه‌ای تولید نشد (جدول ۳).

وزن خشک ریشه چه در پتانسیل اسمزی صفر اختلاف معنی‌داری با ۴- بار نداد و با افزایش پتانسیل اسمزی از ۴- بار وزن خشک ریشه چه کاهش یافت. وزن خشک ریشه چه در مقادیر مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار

جدول ۱: تجزیه واریانس پارامترهای مختلف جوانه‌زنی گلریگ تحت تأثیر کم آبی و مصرف کیروزان

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد جوانه زنی	شاخص جوانه زنی	طول ساقچه	طول ریشه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن خشک ساقچه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	مطلوب دی آلدید	مطلوب دی آلدید	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز
کیروزان	۹	۶۸۷۴۹**	۳۶۸۵**	۱۱۸۸۴**	۰/۱۷**	۰/۹۷**	۰/۰۳**	۰/۰۱**	۰/۰۸**	۰/۳۷**	۰/۰۳**	۰/۰۷۲۰**	۰/۱۱۸۳**	
تنش کم آبی	۳	۳۳۱۵/۰۳**	۱۱۲۴/۴۴**	۶۳۷/۸۸**	۳۸/۰۱**	۳۷/۲۳**	۰/۰۵**	۰/۰۱**	۱/۶۵**	۷/۲۲**	۰/۱۲**	۰/۱۳۲۵/۱**	۰/۰۵۱۶/۰۳**	
کیروزان×کم آبی	۲۶	۳۳۲/۸۳**	۷/۸۷**	۴۳/۱۱**	۰/۰۳**	۰/۰۳**	۰/۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۱۰۰**	۰/۱۲**	۰/۰۳**	۰/۰۳۸۰/۵**	۰/۰۳۱۱/۸۷**	
خطای آزمایشی	۸۱	۴۵/۰۴	۳/۱۷	۱۶/۱۵	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۳	۰/۰۰۳	۱/۸۷/۹	۱/۳۴/۸	
ضریب تغییرات	۹/۳۱	۱۵/۶۷	۱۵/۰۲	۱۹/۳۳	۱۷/۵۸	۱۶/۶۳	۱۲/۳۳	۱۱/۵	۹/۷۷	۱۷/۹	۱۷/۹	۱۵/۰۴		

\* و \*\* به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کم آبی و کیروزان بر صفات مختلف جوانه‌زنی گلریگ

نش کم آبی (بار)	کیروزان (٪)	درصد جوانه زنی (٪)	شاخص جوانه زنی	طول ساقچه (cm)	طول ریشه‌چه (cm)	وزن خشک ساقچه (g)	وزن خشک ریشه‌چه (g)	مطلوب دی آلدید (mg/g F.W)	مطلوب دی آلدید (mM cm <sup>-1</sup> )	فعالیت پراکسیداز (ΔA mg pro. <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	فعالیت کاتالاز (ΔA mg pro. <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
۰	۸۲/۸a	۱۹/۱a	۲۷۵a	۲/۸۸a	۰/۰۹۸a	۰/۰۱۴a	۰/۲۰c	۰/۵۹b	۰/۸۴a	۱۹۸/۴c	۱۶۹/۵۷c
-۴	۷۹/۱b	۱۳/۱b	۱/۱۹b	۲/۱۹b	۰/۱۰۸a	۰/۰۱۵a	۰/۳۰b	۰/۵۹b	۰/۷۷b	۲۳۷/۵b	۳۰۷/۵b
-۸	۷۷/۲c	۸/۷c	۰/۶۹c	۱/۳۲c	۰/۰۸۵b	۰/۰۰۸b	۰/۳۸a	۰/۶۱a	۰/۶۳c	۴۳۹/۹a	۴۳۴/۰a
-۱۲	۴۸/۹d	۴/۳d	۰/۱۱d	۰/۵۶d	۰/۰۶۳c	۰/۰۰۲c	۰/۰۸d	۰/۱۲c	۰/۲۵d	۶۷/۱۵d	۳۷/۸d
۰/۰۵	۸۰/۳۳a	۱۲/۹۸a	۱/۳۴ab	۲/۱۲a	۰/۰۸۷abc	۰/۰۱۱a	۰/۲۸ab	۰/۴۵d	۰/۷۵b	۲۵۸/۸abc	۲۴۱/۶۵a
۰/۱	۷۷/۷a	۱۲/۵۵ab	۱/۲۵abc	۲/۱۴a	۰/۰۹۱ab	۰/۰۱۰ab	۰/۲۸ab	۰/۴۰c	۰/۸۸a	۲۳۲/۷ab	۲۴۲/۷a
۰/۲	۷۴/۰a	۱۱/۰ab	۱/۲۹ab	۲/۱۳a	۰/۰۸۴abc	۰/۰۱۱a	۰/۲۹a	۰/۳۷f	۰/۷۷c	۲۵۱/۳abc	۲۶۵/۸۱a
۰/۴	۸۱/۰a	۱۲/۳ab	۱/۳۱a	۲/۰۹a	۰/۰۹۵a	۰/۰۱۱a	۰/۲۸bc	۰/۴۷cd	۰/۶۷b	۲۸۹/۲۱a	۲۶۵/۶۵a
۰/۵	۷۱/۰ab	۱۱/۲abc	۱/۱۷abcd	۱/۷۵bc	۰/۰۷۵bcd	۰/۰۰۹ab	۰/۲۴bc	۰/۵۱bc	۰/۶۱d	۲۴۰/۱۷bcd	۲۴۱/۶۵a
۱	۲۲/۷bcb	۹/۴۱d	۱/۰۸cd	۱/۳۲cd	۰/۰۶۴cd	۰/۰۱۰ab	۰/۲۴bc	۰/۵۱bc	۰/۵۹c	۲۲۲/۴cd	۲۳۷/۰۵a
۲	۶۰/۷۷c	۹/۷۷cd	۱/۰۶cd	۱/۴۱d	۰/۰۶۲cd	۰/۰۱۰ab	۰/۲۵bc	۰/۵۵ab	۰/۵۲f	۲۱۱/۲cd	۲۳۷/۰۵a
۳	۲۲/۷bcb	۹/۴۱d	۱/۰۰d	۱/۴۸cd	۰/۰۶۱d	۰/۰۰۸b	۰/۲۱c	۰/۵۷a	۰/۳۶g	۲۰۹d	۲۳۷/۰۵a
آب	۷۵/۰a	۱۲/۷۱ab	۱/۱۴bcd	۱/۸۳b	۰/۰۷۲bcd	۰/۰۱۱a	۰/۲۲c	۰/۴۸cd	۰/۴۴f	۲۳۹/۷bcd	۲۳۷/۰۵a
استیک اسید	۷۵/۷a	۱۱/۲abc	۱/۳۳abc	۱/۶۷bc	۰/۰۷۰bcd	۰/۰۰۹ab	۰/۱۸d	۰/۴۹cd	۰/۴۳f	۲۳۷/۰۵a	۲۳۷/۰۵a

اعداد با حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون دانکن (P<0.05) اختلاف معنی‌داری ندارند.



با افزایش تنش کم آبی به ۸- بار، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت. کیتوزان در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد در مقایسه با تیمار آب و استیک اسید سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، فعالیت این آنزیم در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب افزایش و در غلظت‌های ۱ تا ۳ درصد کاهش یافت. در پتانسیل اسمزی ۴- بار، فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب و استیک اسید نداشت. بذرهای تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان زمانی که در پتانسیل اسمزی ۸- بار قرار گرفتند میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در آنها نسبت به تیمار آب کاهش یافت. در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار، غلظت ۰/۴ درصد کیتوزان فعالیت این آنزیم را تحریک نمود (جدول ۳).

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش تنش کم آبی به ۸- بار افزایش یافت. پیش تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف کیتوزان تأثیری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز نداشت (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، فعالیت این آنزیم در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب افزایش و در غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ درصد کاهش یافت. در پتانسیل اسمزی ۴- بار، فعالیت آنزیم پراکسیداز در غلظت‌های مختلف کیتوزان و تیمار آب یکسان بود. بذرهای تیمار شده با غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان زمانی که در پتانسیل اسمزی ۸- بار قرار گرفتند میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در آنها نسبت به تیمار آب کاهش یافت. در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار، غلظت ۰/۰۵ درصد کیتوزان فعالیت این آنزیم را تحریک نمود (جدول ۳).

### بحث

با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که درصد و شاخص جوانه‌زنی، طول ساقچه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقچه و ریشه‌چه بذرها به طور معنی‌داری در اثر تنش کم آبی کاهش می‌یابند. نتایج مشابهی نیز توسط سید

محتوی مالون دی‌آلدئید (MDA) گیاهچه‌ها با افزایش تنش کم آبی به ۸- بار، افزایش یافت. بیشترین محتوی MDA در غلظت کیتوزان ۳ درصد به دست آمد و کمترین مقدار آن مربوط به کیتوزان ۰/۲ درصد بود (جدول ۲). در شرایط بدون تنش، تیمار آب بیشترین محتوی MDA را به خود اختصاص داد. در این شرایط کمترین محتوی MDA مربوط به غلظت کیتوزان ۰/۱ درصد بود که با کیتوزان ۰/۰۵ و ۰/۴ درصد اختلاف معنی‌داری نداشت. خیساندن بذر در محلول ۰/۵ تا ۳ درصد کیتوزان، سبب افزایش معنی‌داری در پراکسیداسیون لیپیدی غشاء (نسبت به تیمار آب) در پتانسیل‌های اسمزی ۴- بار می‌شود. در پتانسیل‌های اسمزی ۴- و ۸- بار کاهش محتوی MDA گیاهچه‌ها در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۲ درصد کیتوزان مشاهده شد. در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار، غلظت کیتوزان ۰/۱ درصد سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی شد که اختلاف معنی‌داری با غلظت کیتوزان ۰/۰۵ درصد نداشت (جدول ۳).

با افزایش تنش کم آبی غلظت پروتئین گیاهچه‌های گلرنگ کاهش یافت. افزایش غلظت کیتوزان از ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد سبب افزایش غلظت پروتئین در مقایسه با تیمار آب و استیک اسید (۰ درصد) گردید (جدول ۲). در گیاهچه‌های تنش ندیده تغییری در مقدار پروتئین در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۱ درصد کیتوزان در مقایسه با تیمار آب مشاهده نشد در حالی که این صفت در غلظت‌های ۲ و ۳ درصد کیتوزان کاهش یافت. پیش تیمار بذر با محلول ۰/۰۵ تا ۳ درصد کیتوزان در پتانسیل اسمزی ۴- بار سبب افزایش غلظت پروتئین نسبت به تیمار آب شد. در پتانسیل اسمزی ۸- بار، مقدار این صفت در غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب افزایش یافت و همچنین در غلظت‌های ۱ و ۳ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب نداشت. مقدار پروتئین در پتانسیل اسمزی ۱۲- بار، در غلظت ۰/۱ درصد کیتوزان بیشترین مقدار بود (جدول ۳).



تحت تیمار خشکی میزان پرولین گیاهچه‌ها افزایش می‌یابد. تجمع ترکیبات آلی مانند پرولین در سیتوپلاسم نقش مهمی را در کاهش تنش اسمزی ایفاء می‌کنند (۵۰). افزایش تجمع پرولین در حین تنش می‌تواند به دلیل تحریک سنتز آن از اسید گلوتامیک، کاهش صادرات آن از طریق آوند آبکشی، جلوگیری از اکسیداسیون آن در طول تنش و تخریب و اختلال در گیاهان در طول تنشهای رطوبتی، برای انجام فرآیند سنتز پروتئینها باشد (۲۸). میزان پرولین در غلظتهای ۰/۰۵ تا ۰/۲ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب افزایش یافت. در این بررسی مشاهده شد که کیتوزان در غلظتهای پایین (۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد) باعث کاهش میزان پرولین با افزایش پتانسیل اسمزی می‌شود در حالی که با افزایش غلظت کیتوزان، میزان پرولین افزایش می‌یابد. تجمع MDA اغلب به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی استفاده شده است (۳۹). در این مطالعه محتوی MDA با افزایش تنش کم آبی به ۸- بار، افزایش یافت. تنش کم آبی باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که مسئول اکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد (۴۵). در تحقیق حاضر محتوی MDA در غلظتهای پایین کیتوزان کاهش یافت. پرابیمینگ بذره‌های ذرت با کیتوزان نیز منجر به کاهش محتوی MDA شده است (۱۴). همچنین در گیاه آبی *Hydrilla verticillat* مشخص شده که محتوی MDA در گیاهان تیمار شده با کیتوزان نسبت به شاهد کاهش می‌یابد (۵۶). به نظر می‌رسد کیتوزان می‌تواند با کلاته کردن یونهای فلزی یا ترکیب شدن با لیپیدها، اکسیداسیون لیپیدها را کاهش دهد (۵۷). در این آزمایش با افزایش پتانسیل اسمزی محتوی MDA گیاهچه‌ها در غلظتهای ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب کاهش یافت. به نظر می‌رسد کیتوزان در غلظتهای پایین، با از بین بردن رادیکالهای آزاد بطور مستقیم و یا توسط آنزیمهای آنتی‌اکسیدان، از اکسیداسیون چربیها جلوگیری نموده و مانع افزایش مالون دی‌آلدئید شود.

شریفی و سید شریفی (۱۳۸۷) گزارش شده است (۲). درصد و شاخص جوانه‌زنی بذره‌های گلرنگ در غلظتهای پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد) نسبت به تیمار آب تغییری نشان ندادند در حالی که در این شرایط افزایش طول ساقچه‌چه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ساقچه‌چه مشاهده شد. در غلظتهای بالای کیتوزان (۱ تا ۳ درصد)، این صفات نسبت به تیمار آب افزایش یافتند. گان و همکاران (۱۴) نشان دادند که کیتوزان اثر معنی‌داری بر جوانه‌زنی بذره‌های ذرت در دمای پایین نداشت، در حالی که شاخص جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ساقچه‌چه و ریشه‌چه را در دو دودمان ذرت آزمایش شده، افزایش داد. به طور مشابه در بذره‌های بادام زمینی خیس‌مانده در کیتوزان، افزایش سرعت و انرژی جوانه زنی مشاهده شده است (۵۸). کیتوزان در غلظتهای پایین می‌تواند جوانه‌زنی بذره‌های سویا را افزایش دهد در حالی که غلظتهای بالای آن ممکن است برای بذر سمی باشند (۲۲).

به نظر می‌رسد با افزایش پتانسیل اسمزی (۱۲- بار) درصد و شاخص جوانه‌زنی گیاهچه‌ها، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه در غلظتهای ۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد کیتوزان نسبت به تیمار آب بیشتر و در غلظتهای ۱ تا ۳ درصد کمتر بودند. در این شرایط، گیاهچه‌ها در غلظتهای ۰/۵ تا ۳ درصد هیچ ساقچه‌ای تولید نکردند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت کیتوزان در غلظتهای پایین تر از ۰/۵ می‌تواند کاهش درصد و شاخص جوانه‌زنی ناشی از افزایش تنش کم آبی را جبران کند. بنا به اظهار نظر محققین، پوشش بذر با کیتوزان ممکن است جوانه‌زنی بذر را افزایش داده و تحمل به شرایط تنش را در گیاهچه‌های برنج افزایش دهد (۳۷). 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 (۴).

پراکسیداز نداشت. در دو لاین ذرت آزمایش شده، کیتوزان منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد (۱۴). در شرایط تنش خشکی، بافت‌های گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اثرات زیان بار رادیکال‌های آزاد (ROS) را کاهش می‌دهد (۳۸). بنابراین این واکنشها موجب سازگاری کوتاه مدت به کم آبی می‌شوند، اما فعالیت‌های آنزیمی و آنتی‌اکسیدانتها نمی‌توانند روی خشکی شدید و دراز مدت مؤثر باشد (۴۴).

اخیراً فعالیت آنتی‌اکسیدانت کیتوزان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (۳۵). کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O<sub>2</sub> را خنثی کند و مشخص شده که خاصیت حفاظت کننده از DNA را دارد (۱۶). مکانیسم خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد 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 (ROS) واکنش نشان می‌دهد (۲۷، ۴۲، ۵۵). در این آزمایش، اعمال سطح تنش ۸- بار همراه با خیساندن بذر در غلظت‌های پایین کیتوزان منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز شد. این کاهش فعالیت این آنزیمها در گیاهچه‌های تنش دیده را می‌توان به اثر آنتی‌اکسیدانی کیتوزان در خنثی‌سازی مستقیم یون سوپر اکسید نسبت داد. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیمها در غلظت‌های ۰/۵ تا ۳ درصد کیتوزان اختلاف معنی‌داری با تیمار آب نداشت.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که پیش تیمار بذرهای گلرنگ با غلظت‌های پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد) اثر مثبتی بر جوانه‌زنی داشته و با تأثیر بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه سبب افزایش مقاومت گیاهچه‌های گلرنگ تحت تنش کم آبی می‌گردد.

طبق نتایج به دست آمده تنش کم آبی غلظت پروتئین را کاهش می‌دهد درحالی که پیش تیمار بذرها با غلظت‌های پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد) سبب افزایش آن گردید. تحت شرایط تنش شدید کاهش معنی دار پروتئین در گیاهچه‌ها را می‌توان هم به تخریب پروتئین و هم کاهش سنتز آن (۲۰) نسبت داد. وقتی گیاهچه‌ها در معرض تنش بالا (۸-) و غلظت‌های پایین کیتوزان قرار می‌گیرند غلظت پروتئین در آنها افزایش می‌یابد. در شرایط تنش آب، اکسیژن فعال در گیاهان تجمع می‌یابد. در این شرایط در گیاهان یک سیستم دفاعی ایجاد می‌شود که توسط آنزیم‌های محافظت کننده درونی تسریع می‌شود که به خوبی از صدمات اکسیژن فعال جلوگیری می‌کند و بنابراین به فعالیت عادی گیاه کمک می‌کند (۴۷). زمانی که گیاهان در معرض تنش کم آبی قرار می‌گیرند، لازم است که تمام سیستم‌های دفاعی برای مقابله با صدمات اکسیژن فعال، فعالیت خود را شروع کنند. در بسیاری از گیاهان مشخص شده که تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسیداز را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۰). مطالعات زیادی نشان داده است که درجه خسارت ایجاد شده توسط تنش خشکی همبستگی منفی با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسیداز دارد (۱۰، ۱۳). در این تحقیق نیز با کاهش پتانسیل آب به ۸- بار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسیداز در واکنش به تنش کم آبی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۱، ۲۴، ۴۰). به نظر می‌رسد در گیاهچه‌های گلرنگ آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نقش کلیدی در محافظت گیاهچه‌ها در برابر تنش کم آبی دارند. پیش تیمار بذرها با غلظت‌های ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد کیتوزان سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. پیش تیمار بذرها با غلظت‌های مختلف کیتوزان تأثیری بر فعالیت آنزیم

### منابع

- ۲- سید شریفی، ر. و. سید شریفی. ۱۳۸۷. بررسی اثرات PEG بر جوانه زنی و رشد گیاهچه ارقام گلرنگ. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۱، شماره ۳: ۴۰۰-۴۱۰.
- ۱- دولت‌آبادیان، آ.، مدرس‌ثانوی س.ع. م. و شریفی م. ۱۳۸۸. اثر تنش کم‌آبی و محلول‌پاشی اسید اسکوربیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی تغییرات بیوشیمیایی در برگ ذرت دانه‌ای (*Zea mays* L.). مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۲، شماره ۲: ۴۰۷-۴۲۲.
3. Babel, S., Kurniawan, T.A. 2003. Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. *Journal of Hazardous Materials*. 97: 219-243.
4. Barka, E.A., Eullaffroy, P., Clément, C., Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis Vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports*. 22: 608-614.
5. Bates, L.S., Waldern, R.P., Teave, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*. 39: 205-207.
6. Boonlertnirun, S., Sarobol, E.D., Meechoui, S., Sooksathan I., 2007. Drought recovery and grain yield potential of rice after chitosan application. *Kasetsart Journal. (Nature Science)*. 41: 1-6
7. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*. 72: 248-254.
8. Cakmak, I. and Horst, W. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). *Plant Physiology*. 83: 463-468.
9. Chibu, H., Shibayama, H. 2001. Effects of chitosan applications on the growth of several crops, in: Uragami, T., Kurita, K., Fukamizo T. (Eds.), *Chitin and Chitosan in Life Science*, Yamaguchi, pp. 235-239.
10. Chowdhury, R.S., Choudhuri M.A. 1985. Hydrogen peroxide metabolism as index of water stress tolerance in jute. *Physiologia Plantarum*. 65: 503-507.
11. De Vos, C., Schat, H., De Waal, M., Vooijs, R., Ernst, W. 1991. Increased to copper-induced damage of the root plasma membrane in copper tolerant silene cucubalus, *Plant Physiology*. 82: 523-528.
12. Devlieghere, F., Vermeulen, A., Debevere, J. 2004. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables, *Food Microbiol*. 703-714.
13. Dhindsa, R.S., Matow E.W. 1981. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzyme defense against lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*. 32: 79-91.
14. Guan, Y.J.; Hu, J.; Wang, X.J.; 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: 427-433.
15. Hadwiger, L.A., Klosterman, S.J., Choi, J.J. 2002. The mode of action of chitosan and its oligomers in inducing plant promoters and developing disease resistance in plants, in: K. Suchiva, S. Chandkrachang, P. Methacanon, M.G. Peter (Eds.), *Advances in Chitin Science*, vol. 5, Bangkok, pp. 452-457
16. Harish Prashanth, K.V., Dharmesh, S.M., Jagannatha Rao, K.S., Tharanathan, R.N. 2007. Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. *Carbohydrate Research*. 342:190-195.
17. Harte, J., Saleska, S., Shih, T. 2006. Shifts in plant dominance control carbon-cycle responses to experimental warming and widespread drought. *Environmental Research Letter*. 1: 1-4.
18. Hirano, S. 1988. The activation of plant cells and their self-defence function against pathogens in connection with chitosan. *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, 62: 293-295 (in Japanese with English summary)
19. Jajarmi V. 2008. Effect of water stress on germination indices in seven safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.). *Proceedings of the Seventh International Safflower Conference*, Wagga Wagga, New South Wales, Australia.
20. Jiang, H.F., Ren X.P. 2004. The effect on SOD activity and protein content in groundnut leaves by drought stress. *Acta Agromomica Sinra*, 30: 169-174. (in Chinese)
21. Kar, G., Kumar, A., Martha, M. 2007. Water use efficiency and crop coefficients of dry season oilseed crops. *Agriculture Water Manage*. 87: 73-82.

22. Katchadat, k. 2005. Effects of chitosan on fusarium solani causative a soybean related. Sudden death syndrome pathogen (M. S. Thesis). Technology and Environmental Management, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.
23. Kim, H.J. 2005. Characterization of bioactive compounds in essential oils, fermented anchovy sauce, and edible plants, and, induction of phytochemicals from edible plants using methyl jasmonate (MeJA) and chitosan. PhD Thesis, Clemson University, USA, 178 pp
24. Kukreja, S., Nandval, A.S., Kumar, N., Sharma, S.K., Sharma, S.K., Unvi, V., Sharma, P.K. 2005. Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Journal of Plant Biology*. 49: 305-308.
25. Lee, Y.S., Kang, C.S., Lee, Y.S. 1999. Effects of chitosan on production and rot control of soybean sprouts. *Korean Journal of Crop Science*. 44: 368-372
26. Lee, Y.S., Kim, Y.H., Kim, S.B. 2005. Changes in the respiration, growth and vitamin C content of soybean sprouts in response to chitosan of different molecular weights. *HortScience*. 40: 1333-1335
27. Li, W.J., Jiang, X., Xue, P.H., Chen, S.M. 2002. Inhibitory effects of chitosan on superoxide anion radicals and lipid free radicals. *China Science Bull*. 47:887-889.
28. Lutts, S.J., M. Kint, and Bouharmont, J. 1996. Effect of various salts and mannitol on ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice callus cultures. *Journal of Plant Physiology*. 149: 186-195
29. Manabe, S, Wetherald, R.T., Milly, P.C.D., Delworth, T.L., Stouffer R.J. 2004. Century-scale change in water availability: CO<sub>2</sub>-quadrupling experiment. *Climate Change*. 64:59-76.
30. Michel, B.E. and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*. 51: 914-916.
31. No, H.K., Meyers, S.P., Lee, K.S. 1989. Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37(3): 575-579.
32. Obara, K., Ishihara, M., Ishizuka, T., Fujita, M., Ozeki, Y., Maehara, T., Saito, Y., Yura, H., Matsui, T., Hattori, H. 2003. Photocrosslinkable chitosan hydrogel containing fibroblast growth factor-2 stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice. *Biomaterial*. 24: 3437-3444.
33. Ohta, K., Tanguchi, A., Konishi, N., Hosoki, T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. *Hortscience*, 34: 233-234.
34. Pandolfini, T., Gabbriellini, R., Comparini, C. 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell and Environment*. 15: 719-725.
35. Park, P.J., Je, J.Y., Kim, S.K. 2004. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*. 55: 17-22.
36. Pospieszny, H., Chirkov S., Atabekov, J. 1991. Induction of antiviral resistance in plants by chitosan, *Plant Science*. 79: 63-68.
37. Ruan, S.L., Xue Q.Z. 2002. Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agronomica Sinica*. 28(6): 803-808. (in Chinese).
38. Sharma, P., Dubey, R.S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 46: 209-221.
39. Smirnoff, N. 1995. Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff N, ed. *Environment and plant metabolism. Flexibility and acclimation*. Oxford: Bios Scientific Publishers. 217243.
40. Srivalli, B., Sharma, G., Khanna-Chopra, R. 2003. Antioxidative defence system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Plant Physiology*. 119: 503-512
41. Sukwattanasinitt, M., Klaiherd, A., Skulnee, K., Aiba, S. 2001. Chitosan as a releasing device for 2,4-D herbicide, in: Uragami, T., Kurita, K., Fukamizo T. (Eds.), *Chitin and Chitosan, Chitin and Chitosan in Life Science*, Yamaguchi, pp. 142-143
42. Sun, T., Xie, W.M., Xu, P.X. 2004. Superoxide anion scavenging activity of graft chitosan derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 58:379-382.
43. Talwar, H.S., Chandra Sekhar, A., Nageswara Rao, R.C. 2002. Genotypic variability in membrane thermostability in groundnut. *Indian Journal Plant Physiology*. 7:97-102.
44. Tan, Y., Liang, Z.S., Shao, H.B., Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-

- oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix Astragali* at seeding stage. *Colloids and Surface Science B*. 49: 60-65.
45. Upadhyaya, H. and Panda, S. K. 2004. Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. *Journal of Plant Biology*. 48: 597-600.
  46. Uthairatanakij, A., Teixeira da Silva J. A., Obsuwan K. 2007. Chitosan for Improving Orchid Production and Quality. *Orchid Science and Biotechnology* 1(1): 1-5
  47. Wang, J., Li D.Q., Gu L.S. 2002. The response to water stress of the antioxidant system in maize seedling roots with different drought resistance. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*. 22: 285-290.
  48. Wang, X.H., Li, D.P., Wang, W.J., Feng, Q.L., Cui, F.Z., Xu, Y.X., Song, X.H., vander Werf, M. 2003. Crosslinked collagen/chitosan matrix for artificial livers. *Biomaterials*. 24: 3213-3220.
  49. Wanichpongpan, P., Suriyachan K., Chandkrachang S. 2001. Effect of chitosan on the growth of *Gerbera* flower plant (*Gerbera jamesonii*). *Chitin and chitosan: Chitin and Chitosan in Life Science*, Yamaguchi, Japan, pp 198-201.
  50. Watanabe, S., Kojima, K., Ide, Y., Satohiko Sasaki, S., 2000. Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* in vitro. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 63(3): 199-206.
  51. Wei, S, Zang, X.M., Xue, J.P., Xiang G. 2007. Effect of chitosan on seeds germination and seedling physiological property of wheat. *Periodicals. Core Journals Biology Journal*. 24 (2)
  52. Winter, Y., House, Q.P., Xiu-juan, W., Zhi-Meng, Z., You-rong, S. 2001. Effect of chitosan on physiological activities in germinating seed and seedling leaves of maize. *Periodicals Hebei Vocational and Technical Teachers College Journal*. 15(4)
  53. Winter, Y., House, Q.P., Zhi-Meng, Z, Xiujuan, W, Xiao-jun, H. 2002. Germinating seed of peanut effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *Core Journals Journal of peanut science*. 31(1)
  54. Worrell, D.B., Sean Carrington, C.M., Huber, D.J. 2002. The use of low temperature and coatings to maintain storage quality of breadfruit, *Artocarpus altilis* (Parks.). *Postharvest Biology and Technology*. 25: 33-40.
  55. Xie, W.M., Xu, P.X., Liu, Q. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 11: 1699-1701.
  56. Xu, Q.J., Nian, Y.G., JINXC, Yan, C.Z., Liu, J., Jiang, G.M. 2007. Effects of chitosan on growth of an aquatic plant (*Hydrilla verticillata*) in polluted waters with different chemical oxygen demands. *Chinese Journal of Environmental Science*. 19: 217-221
  57. Xue, C., Yu, G., Hirata, T. 1998. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidylcholine/liposomal suspension and organic solvents [J]. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 62: 206-209.
  58. Zhou, Y.G., Yang, Y.D., Qi, Y.G., Zhang, Z.M.; Wang, X.J.; Hu, X.J. 2002. Effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *Core Journals Journal Peanut Science*. 31: 22-25.

## Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed Germination and antioxidant enzymes activity under water stress

Mahdavi B<sup>1</sup>., Modarres Sanavy S. A. M<sup>1</sup>., Aghaalikhani M<sup>1</sup>., Sharifi M<sup>2</sup>.

1- Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. Tehran, I.R. of Iran

2- Plant Science Dept., Faculty of Biological Science, Tarbiat Modares University. Tehran, I.R. of Iran.

### Abstract

In order to study the effects of different chitosan concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 1, 2, 3%,) along with a additional treatment of distilled water on seed germination of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedling, under water stress conditions (0, -4, -8 and -12 bar) an experiment was conducted in a controlled-environment condition. Results showed that germination percentage, germination index, shoot and root height, shoot and root dry weight and protein content decreased with increasing water stress. Proline and malondialdehyde (MDA) content, Catalase (CAT) and peroxidase (POX) activities increased by increasing osmotic potential to -8 bar. The greatest shoot height and dry weight (19.3 and 36% more than distilled water treatment, respectively) were observed at 0.4% chitosan concentration. At low concentrations of chitosan (0.05 - 0.4%) protein and proline contents and CAT activity increased and MDA content decreased. In osmotic potential -8 bar, the highest germination percentage, shoot and root height obtained by 0.4% chitosan concentration. Also at this osmotic potential a decline in and MDA proline contents, CAT and POX activity and an increase in the concentrations of protein (in comparison with distilled water treatment) were detected in low concentrations of chitosan. In the highest level of osmotic potential (-12 bar), germination percentage, shoot and root height increased by low concentrations of chitosan in comparison with distilled water treatment. Also at this osmotic potential the least rate of former parameters obtained by 1-3% chitosan. Thus, it suggests that chitosan concentration at 0.4% or lower levels may improve germination percentage of safflower seeds and benefit for seedlings growth under water deficit stress.

**Keywords:** Chitosan, Germination, Safflower, Water stress