DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

نقش کیتوزان بر کاهش اثرات تنش شوری از طریق آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)

الهه خسروی، اعظم سلیمی*، مریم چاوشی و هانیه زیدی

ایران، تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴

چکیده

خرفه (*Portulaca oleracea* L.) یک گیاه دارویی از خانواده Portulacaceae است که نقش حفاظتی در برابر آسیب‌های کبد، هپاتیت ویروسی، دیابت و سرطان دارد. تنش شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و نمو گیاهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد. کیتوزان یک الیسیتور زیستی و از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی اثرات تنش شوری و کیتوزان روی شاخص‌های فیزیولوژیکی و پارامترهای رشد گیاه خرفه بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. بدین منظور گیاه خرفه تحت تیمارهای مختلف شوری (۰، ۲۵ و ۳۵ دسی‌زیمنس‌برمتر) و کیتوزان (۰، ۰/۲ و ۰/۴ گرم‌درلیتر) قرار گرفت. گیاهان بعد از اعمال تیمار برداشت شدند. پارامترهای مختلف مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی برای تیمارهای مختلف بررسی شد. نتایج نشان داد که با توجه به گوشتی و شور پسند بودن گیاه خرفه، سطح شوری ۲۵ دسی‌زیمنس‌برمتر رشد مساعد و سطح شوری ۳۵ دسی‌زیمنس‌برمتر کاهش رشد را در گیاه خرفه نشان داد. شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فلاونوئید شده و محتوای آنتوسیانین را کاهش می‌دهد. تیمار هم‌زمان شوری و کیتوزان باعث افزایش رشد، محتوای فنل، فعالیت پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز شده و فعالیت آنزیم کاتالاز را و محتوای آنتوسیانین را کاهش می‌دهد. در این پژوهش کیتوزان نقش بهبود دهنده‌ای در شرایط تنش ایفا کرده است. با توجه به روند رو به رشد اراضی شور در کشور، استفاده از الیسیتورها به‌خصوص کیتوزان به‌عنوان پلیمر زیستی کاهش‌دهنده آثار تنش شوری در گیاه خرفه، حائز اهمیت می‌باشد.

واژه های کلیدی: تنش اسمزی، فلاونوئید، کاتالاز، پراکسیداز، خرفه

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۸۸۳۲۹۲۲۰ ، پست الکترونیکی: salimi@khu.ac.ir

مقدمه

شوری یک مشکل در حال توسعه در خاک‌های کشاورزی است که رشد و نمو گیاهان را محدود می‌کند. کشور ایران به دلیل شرایط خاص اقلیمی، مناطق وسیعی از اراضی شور و کویری را در خود جای‌داده است. با توجه به روند رو به رشد جمعیت و لزوم بهره‌برداری از زمین‌های شور، یافتن گیاهان زراعی و دارویی توانمند در مقابل تنش‌های شوری، انتخاب روش‌های اصلاحی برای احیاء خاک‌های شور و اصلاح گیاهان و استفاده از محرک‌ها به‌منظور بالا بردن تحمل به شوری می‌تواند یک راهکار جهت غلبه بر مشکل شوری باشد (۶).

خرفه با نام علمی *Portulaca oleracea* L. به تیره Portulacaceae تعلق دارد. انتشار جغرافیایی آن در ایران، تقریباً در تمام ایران به‌خصوص نواحی شمالی (گیلان و مازندران)، تهران، نواحی غربی، جنوب شرقی (بلوچستان) می‌باشد؛ و در مناطق جنوبی کشور به‌عنوان یک سبزی مهم مورد استفاده قرار می‌گیرد. خرفه به سهولت در خاک‌های

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

خشک و شور رشد می‌کند (۴۰). بذر خرفه در شوری بالا جوانه‌زده و می‌توانند به چرخه‌ی زندگی خود ادامه داده و بذر تولید کنند (۱۵). ترکیبات شیمیایی موجود در قسمت‌های مختلف این گیاه شامل کربوهیدرات، پروتئین، کلسیم، روی، پتاسیم (۱۸)، آلفا توکوفرول، گلوتاتیون، کاروتن، پلی‌ساکاریدها، ساپونین‌ها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب، ویتامین‌ها، استروئیدها، فلاونوئیدها می‌باشند. از جمله ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه می‌توان به کریستئین، کامفرول، میریستئین، آپی ژنین، لوتئولین، ژنیستئین و ژنیستین اشاره کرد، که ویژگی آنتی‌اکسیدانی دارند (۳۰).

کیتوزان یک ماده غیر سمی، بیوپلیمر آلی و طبیعی، پلی‌ساکارید نیتروژن‌دار و قابل‌تجزیه زیستی است که می‌تواند تنش‌های محیطی حاصل از شوری و خشکی خاک را کاهش دهد و موجب بهبود روند رشد در گیاهان شود (۲۳).

تنش شوری باعث کاهش وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و اندام هوایی و محتوای نسبی آب در برگ گیاه خرفه شده است (۴). کاهش رشد در تنش شوری در رزماری (۸) و مریم گلی (۳۷) نیز گزارش‌شده است. Munns و همکاران در ۲۰۰۸ کاهش فتوسنتز براثر تنش شوری در گیاهانی نظیر پنبه، پیاز، حبوبات، گوجه‌فرنگی، گندم، جو، ارزن، نخود، چغندرقند، برنج و بسیاری از گیاهان دیگر را گزارش نمودند (۳۲). این در حالی است که تیمار کیتوزان توانسته اثرات ناشی از تنش شوری را در کاهو (۳۹)، لوبیا (۳۵)، پونه (۴۱) کاهش داده و رشد گیاه افزایش یابد. در این پژوهش به ارزیابی تحمل به شوری گیاه خرفه پرداخته شد و به‌منظور بالا بردن تحمل گیاه خرفه به تنش شوری اثر محرک‌هایی همچون کیتوزان را که یک ماده‌ی غیر سمی و با منشأ طبیعی است موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

بذرهای گیاه خرفه، در گلدان‌های حاوی ترکیب خاکی یک‌سوم خاک باغچه، یک‌سوم پیت ماس و یک‌سوم ماسه در گلخانه تحقیقاتی فیزیولوژی گیاهی دانشگاه خوارزمی در تهران کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها با آب مقطر انجام گردید. در هر نوبت آبیاری، رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی نگه‌داشته شد. ظرفیت زراعی به محتوای آب خاک بعد از این‌که آب مازاد خود را تحت تأثیر نیروی جاذبه از دست داد، اطلاق می‌گردد. چهل روز پس از کشت، در مرحله‌ی ۶ تا ۸ برگی تیمار شوری اعمال گردید. گلدان‌ها با محلول کلرید سدیم خالص در سطوح (۰، ۲۵ دسی زیمنس (۱۶ گرم بر لیتر) و ۳۵ دسی زیمنس بر متر (۲۲/۴ گرم بر لیتر)) آبیاری شدند. تنش شوری به مدت ده روز به صورت یک روز در میان انجام گردید و محلول‌پاشی کیتوزان نیز در غلظت‌های (۰، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر که همه در اسید استیک ۵ درصد حل‌شده بودند) صورت گرفت. برای تهیه محلول‌های کیتوزان از پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین و CAS number (۹۰۱۲-۷۶-۴)، محصول شرکت سیگما (Sigma) استفاده شد. بعد از اعمال تیمار شوری، کیتوزان با غلظت‌های نامبرده سه مرتبه و یک روز در میان به صورت اسپری برگی صورت گرفت. ۲ ماه پس از کاشت گیاه، بعد از پایان تیمارها ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان برداشت شدند.

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه: پس از برداشت گیاهان، اندام‌های هوایی و ریشه‌های هر تکرار به‌طور جداگانه به‌منظور وزن‌تر توزین گردید سپس به‌منظور محاسبه وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند سپس وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه، برحسب گرم با استفاده از ترازوی Sartatius مدل B1150S اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره پروتئینی و سنجش محتوای پروتئین کل: ۰/۵ گرم برگ تازه گیاهان پس از توزین، با دو میلی‌لیتر بافر

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

فسفات پتاسیم (pH ۶/۸) بر روی یخ به‌صورت هموژن درآمد؛ و در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد در سرعت g ۱۵۰۰۰ به مدت ۱۲ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Smart R17، شرکت hanil، کره) شد.

شکل ۱- اثر تیمار شوری (دسی زیمنس بر متر) بر گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.).

سپس فاز بالایی جدا و در فریزر $-20^{o}C$ ذخیره شد. این عصاره برای سنجش‌های آنزیمی و سنجش پروتئین کل نیز مورداستفاده قرار گرفت. ۲۵ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو در ۱۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد حل شد. سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسید ارتوفسفریک ۸۵ درصد به آن اضافه شد و درنهایت حجم کل را با آب مقطر به ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده و معرف تهیه‌شده (برادفورد) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای سنجش پروتئین برگ و ریشه هر نمونه، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به‌دست‌آمده را با ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر و پنج میلی‌لیتر از معرف برادفورد تهیه‌شده مخلوط کرده سپس در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر جذب نوری هر یک از نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) خوانده شد (۱۳).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر انجام شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش که شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH۶/۸)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد به عصاره‌ی آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه **با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت** unico، **آمریکا)** ثبت شد. سپس فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب به ازای دقیقه برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (۱۶).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز: در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH ۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میکرو مول آسکوربیک اسید را در مدت یک دقیقه اکسید کند. سپس فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب به ازای دقیقه برای همه نمونه‌ها محاسبه شد (۱۶).

سنجش فعالیت پلی فنل اکسیداز: سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از روش (Kar and Mishra, 1976) انجام گرفت. بر اساس این روش مخلوط واکنش (۵ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۱۲۵ میکرومولار (pH 6.8)، ۵۰ میکرومولار پیروگالول و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد سپس ۰/۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید ۵٪ به آن اضافه شد سپس تغییرات جذب محلول واکنش نسبت

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

به شاهد با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه خوانده شد (۲۲).

سنجش ترکیبات فنل کل: با استفاده از معرف فولین-سیکالته ترکیبات فنل اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۵ گرم بافت تر برگ با ۳ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ ساییده شد. ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره حاصل با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق‌شده (با نسبت ۱ به ۱۰) ترکیب شد. پس از ۵ دقیقه ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ به آن اضافه شد و پس از ۹۰ دقیقه جذب نوری نمونه به کمک دستگاه اسپکترفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک و با توجه به وزن‌تر برگ و حجم عصاره ترکیبات فنل کل بر اساس میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره بیان شد (۳۶).

سنجش میزان آنتوسیانین‌ها: برای سنجش آنتوسیانین ۰/۱ گرم از بافت تر برگ توسط محلول متانول اسیدی در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به فالکون منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای $4^{\circ}C$ قرار داده شد. نمونه فوق به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ g سانتریفیوژ (مدل LC06) شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم جهت حذف کلروفیل به آن افزوده و جذب محلول رویی در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر توسط اسپکترفتومتر (مدل ۲۱۰۰، شرکت unico، آمریکا) خوانده شد. جهت سنجش آنتوسیانین از نمودار استاندارد آنتوسیانین، سیانیدین -۳-گلوکوزید استفاده شد و غلظت نمونه‌ها برحسب میلی‌گرم در گرم ماده‌تر نمونه محاسبه گردید (۱۷).

سنجش فلاونوئیدها: برای مقایسه ۰/۱ گرم برگ تر را در ۵ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول ۹۵ درصد و اسید استیک با نسبت ۹۹ به ۱) خوب ساییده و عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ می‌شود سپس محلول رویی جدا و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده می‌شود پس جذب محلول‌های به‌دست‌آمده توسط اسپکترفتومتر uv-visible در طول‌موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده می‌شود. برای تنظیم دستگاه از بلانک اتانول اسیدی به عنوان شاهد استفاده می‌شود. میزان ترکیبات بر اساس شدت جذب آن‌ها مقایسه می‌شود (۲۴).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: در این تحقیق کلیه آنالیزها با سه تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها بر پایه آزمایش فاکتوریل دوعاملی با طرح کاملاً تصادفی انجام‌گرفته است. با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (version 23) داده‌ها تحلیل و نمودارهای مربوطه با نرم‌افزار Excel ترسیم گردید. آنالیز واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS صورت گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن (Duncan) در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج

وزن تر اندام هوایی و ریشه: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که وزن تر اندام هوایی در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته و در شوری ۳۵ کاهش داشته است. در بررسی دو غلظت ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر از کیتوزان مشاهده شد که در شرایط بدون تنش غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان کاهش معنی‌دار داشته و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. در شرایط تنش در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر سطوح کیتوزان نسبت به شرایط تنش کاهش معنی‌دار نشان داد و در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان کاهش و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان نسبت به شرایط تنش افزایش معنی‌داری نشان داد جدول (۱).

وزن تر ریشه در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. بررسی کیتوزان در شرایط بدون تنش نشان داد که غلظت ۰/۲ و

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

۰/۴ گرم در لیتر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار بر وزن تر ریشه داشته است. در شرایط تنش در سطح شوری ۲۵ و ۳۵ دسی زیمنس بر متر سطوح کیتوزان نسبت به شرایط تنش کاهش معنی‌داری نشان داد جدول (۱).

محتوای پروتئین: بررسی داده‌ها نشان داد که محتوای پروتئین در شرایط تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. محتوای پروتئین در شرایط بدون تنش و در غلظت ۰/۲ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشته درحالی‌که غلظت ۰/۴ گرم در لیتر باعث افزایش پارامتر نامبرده شده است. محتوای پروتئین در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر در غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان نسبت به شرایط تنش افزایش داشته است. محتوای پروتئین در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر و غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان افزایش و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کاهش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش نشان داده است جدول (۱).

جدول ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف تنش شوری و کیتوزان بر میزان وزن تر اندام هوایی و ریشه، محتوای پروتئین و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی گیاه خرفه.

تیمار (کیتوزان+شوری)	وزن تر ریشه (g)	وزن تر اندام هوایی (g)	پروتئین (mg g^{-1}FW)	کاتالاز (ΔOD g^{-1}FW min^{-1})	آسکوربات پراکسیداز (ΔOD g^{-1}FW min^{-1})	پلی‌فنل اکسیداز (ΔOD g^{-1}FW min^{-1})
شوری (۰) + کیتوزان (۰)	0.003±0.00^{c}	0.976±0.008 ^{c}	8.057±0.008^{d}	0.014±0.0008 ^{d}	0.020±0.0008^{b}	0.0000±0.00004 ^{e}
شوری (۰) + کیتوزان (۰/۲)	0.011±0.00^{a}	0.700± 0.011 ^{a}	7.940±0.013^{d}	0.031±0.0034 ^{bc}	0.029±0.0004^{a}	0.00008±0.0000480^{a}
شوری (۰) + کیتوزان (۰/٤)	0.014±0.00^{b}	1.045± 0.002 ^{b}	8.298±0.033^{c}	0.054±0.0001 ^{a}	0.016±0.0013^{b}	0.0002±0.00014 ^{a}
شوری (۲۵)+کیتوزان (۰)	0.024±0.00^{a}	1.510± 0.011 ^{a}	7.615±0.025^{e}	0.025±0.0017 ^{c}	0.021±0.0007^{b}	0.0002±0.00014 ^{b}
شوری (۲۵)+ کیتوزان (۰/۲)	0.020±0.00^{f}	0.556±0.012 ^{f}	8.843±0.022^{b}	0.049±0.0049 ^{a}	0.007±0.00004^{c}	0.0001±0.00011 ^{c}
شوری (۲۵) + کیتوزان (۰/٤)	0.011±0.00^{c}	0.960±0.011 ^{c}	8.315±0.037^{c}	0.003±0.0000 ^{e}	0.035±0.0019^{a}	0.0001±0.00009 ^{a}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰)	0.008±0.00^{d}	0.855±0.020 ^{d}	6.756±0.118^{f}	0.034±0.0025 ^{b}	0.031±0.0032^{a}	0.0000±0.00004 ^{d}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰/۲)	0.002±0.00^{g}	0.425±0.002 ^{g}	10.215±0.040^{a}	0.011±0.0002 ^{d}	0.020±0.0010^{b}	0.0003±0.00019 ^{d}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰/٤)	0.006±0.00^{e}	0.950±0.005 ^{c}	4.634±0.006^{g}	0.015±0.0019 ^{d}	0.032±0.0041^{a}	0.0002±0.00014 ^{a}

فعالیت آنزیم کاتالاز: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد و بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار کیتوزان در شرایط بدون تنش افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد و بیش‌ترین مقدار در غلظت ۰/۴ گرم در لیتر مشاهده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان افزایش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش داشته است درحالی‌که غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کاهش معنی‌داری نشان داد. فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر غلظت‌های ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان کاهش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش نشان داد جدول (۱).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد درحالی‌که در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار با کیتوزان، در شرایط بدون تنش غلظت ۰/۲ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری در مقایسه با

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

شاهد نشان داد ولی در غلظت ۰/۴ اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان کاهش معنی‌دار داشته است و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری با شرایط تنش نشان داد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر بررسی غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان کاهش معنی‌داری با شرایط تنش نشان داد درصورتی‌که در غلظت ۰/۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. جدول (۱).

فعالیت پلی‌فنل اکسیداز: میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در شرایط تنش نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمار کیتوزان در شرایط بدون تنش، اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشده و در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان در مقایسه با شرایط تنش کاهش و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌دار نشان داد. فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر و غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان اختلاف معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش مشاهده نشد درصورتی‌که در غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کاهش معنی‌داری نشان داد جدول (۱).

محتوای فنل کل: محتوای فنل در شرایط تنش در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. محتوای فنل در تیمار کیتوزان در شرایط بدون تنش افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد و بیش‌ترین مقدار در غلظت ۰/۲ گرم در لیتر مشاهده شد. محتوای فنل در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان اختلاف معنی‌داری با شرایط تنش نشان نداد درحالی‌که غلظت ۰/۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش نشان داد. محتوای فنل در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش داشته است و در غلظت ۰/۴ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد جدول (۲).

محتوای آنتوسیانین‌ها: محتوای آنتوسیانین در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان نداد درصورتی‌که محتوای آنتوسیانین در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده شد. در بررسی محتوای آنتوسیانین در سطوح کیتوزان در شرایط بدون تنش، غلظت ۰/۲ گرم در لیتر افزایش و غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. محتوای آنتوسیانین در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر سطوح کیتوزان کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط تنش نشان داد ولی در بررسی سطوح کیتوزان در شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد جدول (۲).

محتوای فلاونوئیدها: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای فلاونوئید در هر سه طول‌موج در شرایط تنش افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشته است و بیش‌ترین مقدار در شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر مشاهده شد. محتوای فلاونوئید در بررسی سطوح کیتوزان در شرایط بدون تنش میزان فلاونوئید (270nm) در غلظت ۰/۴ گرم در لیتر افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. جذب فلاونوئید(300, 330nm) در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر دو سطح کیتوزان در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. فلاونوئید (300nm) در سطح شوری ۲۵ و ۳۵ دسی زیمنس بر متر، سطوح کیتوزان کاهش معنی‌داری در مقایسه با شرایط تنش نشان داد جدول (۲).

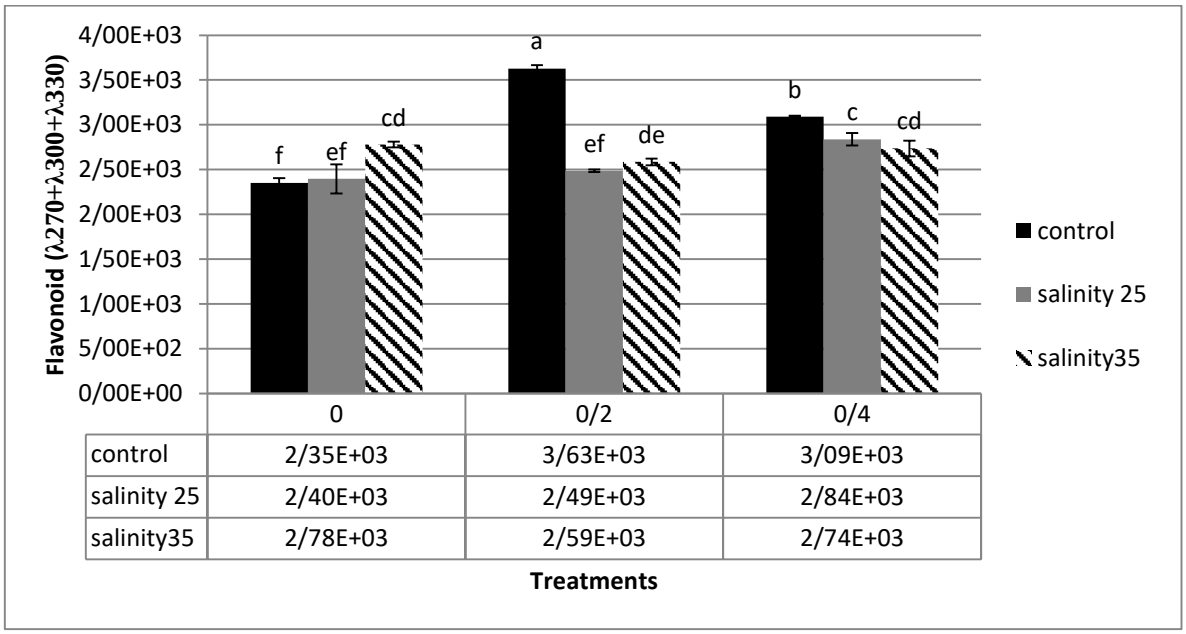
فلاونوئید (330nm) در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد درحالی‌که غلظت ۰/۴ گرم در لیتر در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. جدول (۲).

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6

جدول ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف تنش شوری و کیتوزان بر آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی گیاه خرفه.

تیمار	فلاونوئید (λ =270)	فلاونوئید (λ =300)	فلاونوئید (λ =330)	فنل (mg g^{-1}FW)	آنتوسیانین (mg g^{-1}FW)
شوری (۰) + کیتوزان (۰)	845.74±18.71^{ef}	619.59±35.255^{f}	887.20± 41.78^{cd}	18.66±2.31^{d}	± 1.31 ^{b} 61.84
شوری (۰) + کیتوزان (۰/۲)	806.54±19.58^{f}	708.54±11.75^{ef}	881.16± 6.96^{cd}	26.86±1.14^{b}	76.78 ± 3.40 ^{a}
شوری (۰) + کیتوزان (۰/٤)	1002.53±2.17^{bc}	835.94±3.48^{cd}	939.96± 8.70^{cd}	24.41±0.49^{bc}	52.84 ± 2.76 ^{c}
شوری (۲۵)+کیتوزان (۰)	1291.61±40.69^{a}	1068.11±80.07^{a}	1268.62± 58.31^{a}	19.27±0.92^{d}	62.61 ± 2.80 ^{b}
شوری (۲۵)+ کیتوزان (۰/۲)	860.81±10.00^{ef}	744.73±3.91^{de}	880.41± 0.43^{cd}	20.61±0.42^{d}	51.50 ± 4.22 ^{c}
شوری (۲۵) + کیتوزان (۰/٤)	904.23±38.55^{de}	829.91±26.11^{cd}	851.77± 76.16^{d}	29.97±0.20^{a}	31.75 ± 0.61^{d}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰)	1061.32±9.13^{b}	940.72±20.45^{bc}	1089.22± 5.22^{b}	20.61±0.04^{d}	52.99 ± 1.47^{c}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰/۲)	910.56±10.88^{de}	987.45±43.95^{ab}	940.72± 14.36^{cd}	25.68±0.20^{b}	59.03± 2.002 ^{bc}
شوری (۳۵) + کیتوزان (۰/٤)	959.94±22.41^{cd}	790.71±40.03^{de}	984.44± 33.51^{bc}	21.72±0.58^{cd}	58.81 ± 1.40 ^{bc}

بررسی مجموع طول‌موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر نشان داد که شوری باعث افزایش محتوای فلاونوئیدها شده است. در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر، غلظت ۰/۴ گرم بر لیتر کیتوزان فلاونوئیدها را افزایش داده و شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر بر محتوای فلاونوئید اثر معنی‌داری نداشته است (نمودار ۱).



	0	0/2	0/4
control	2/35E+03	3/63E+03	3/09E+03
salinity 25	2/40E+03	2/49E+03	2/84E+03
salinity35	2/78E+03	2/59E+03	2/74E+03

نمودار ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف تنش شوری و کیتوزان بر جذب فلاونوئید در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر

بحث و نتیجه گیری

رشد و نمو گیاهان نتیجه‌ی تقسیم سلولی و افزایش حجم سلول بدون برگشت‌پذیری می‌باشد. تنش‌های زیستی و غیر زیستی رشد و نمو را کاهش می‌دهند. در تنش شوری تجمع املاح در ناحیه ریشه‌ای باعث منفی‌تر شدن پتانسیل آب خاک شده و نتیجه آن کاهش جذب آب، بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت در تثبیت CO_2 می‌باشد. علاوه بر کاهش جذب آب در گیاهان، در شرایط تنش شوری سمیت یونی در گیاه ایجاد می‌شود. تداوم و شدت تنش شوری، تنش اکسیداتیو را به دنبال دارد که تولید و تجمع

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

رادیکال‌های آزاد را سبب می‌شود که به سلول آسیب‌های جدی وارد می‌کنند و این آسیب‌ها رشد گیاه را به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این پژوهش در بررسی اثر سطوح مختلف تنش شوری بر معیارهای رشد در گیاه خرفه افزایش وزن تر اندام هوایی و ریشه در سطح ۲۵ دسی زیمنس بر متر و کاهش معنی‌داری در سطح ۳۵ دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد مشاهده شد. نتایج مشابه را می‌توان در گیاهانی ازجمله *Triticum aestivum* (۱۲) مشاهده کرد که تنش شوری منجر به کاهش وزن تر و وزن خشک ریشه و اندام هوایی شده است. کاهش رشد ریشه در تنش شوری از طرفی به پتانسیل اسمزی زیاد محلول خاک مرتبط بوده که جذب آب و مواد غذایی را کاهش داده و از طرف دیگر خشکی فیزیولوژیک در محیط ریشه و رقابت بین یون‌های Cl^- و SO_4^{2-} با NO_3^- ایجاد شده است که درنهایت باعث کاهش رشد ریشه می‌گردد (۹).

در این مطالعه بررسی اثر کیتوزان بر پارامترهای رشد، در غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن‌تر ریشه و اندام هوایی گردید. کاربرد غلظت‌های مختلف کیتوزان در گیاه لوبیا (۳۵) ، گندم (۲۶) نیز منجر به افزایش وزن تر ریشه و اندام هوایی گردید. مکانیسم عمل کیتوزان بر رشد ناشناخته باقی مانده است. کیتوزان ممکن است رشد و نمو گیاه را از طریق سنتز هورمون های گیاهی مانند اکسین و ژیبرلین افزایش دهد (۳۸). از آنجایی که افزایش رشد ریشه در واقع افزایش در جذب آب و مواد غذایی است، به نظر می‌آید در شرایط تنش شوری، گیاهان تیمار شده با کیتوزان توانستند از اثرات مخرب شوری بر رشد و گسترش ریشه جلوگیری کنند.

محتوای پروتئین: یکی از راهکارها برای درک توانایی گیاهان در تحمل تنش‌های محیطی شناسایی تغییرات القاشده با تنش در میزان پروتئین آن‌ها می‌باشد. با این اندیشه که سازش به تنش، ناشی از سنتز پروتئین در پاسخ به تنش‌های محیطی و تغییر بیان ژن است. ازجمله رویدادهای مهم بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش شوری، کاهش یا افزایش پروتئین می‌باشد. در مطالعه حاضر میزان پروتئین در سطح شوری ۲۵ دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد افزایش و در شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. این کاهش می‌تواند به دلیل کاهش سنتز پروتئین، تسریع پروتئولیزی، کاهش در فراهمی اسیدهای آمینه و یا دناتوره شدن آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین صورت گیرد (۳۳). ازآنجایی‌که پتاسیم بیش از ۵۰ آنزیم را فعال کرده و عنصری مهم در سنتز پروتئین به شمار می‌آید همچنین tRNA را به ریبوزوم‌ها متصل می‌کند. کاهش در پتاسیم و افزایش سدیم در گیاه و در سیتوزول تحت تنش شوری، کاهش سنتز پروتئین و محتوی پروتئینی را به دنبال خواهد داشت در شاه‌توت تحت تنش شوری پایین پروتئین افزایش و در شوری بالا کاهش یافت (۳۴). که این نتایج با یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. در مطالعه حاضر غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان افزایش معنی‌داری در محتوی پروتئینی در مقایسه با شاهد نشان داد. کیتوزان در گیاه گلرنگ سبب افزایش پروتئین شد گزارش کردند که تیمار با غلظت کیتوزان کم در نهال گلرنگ تحت تنش باعث افزایش غلظت پروتئین محلول می‌شود (۲۷)؛ که در توافق با یافته‌های ما می‌باشد. این نتیجه حاکی از آن است که کیتوزان با غلظت پایین توانسته است مانع از تجمع یون‌های سدیم در سیتوزول شود. این پاسخ را باید در اثر کیتوزان بر فعالیت پمپ‌های SOS_1، HKT_1 و NHX جستجو کرد که نیاز به مطالعه بیش‌تری در آینده دارد.

فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان: آنزیم کاتالاز و پراکسیداز ترکیباتی مانند آب‌اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و بدین ترتیب از آسیب سلولی جلوگیری می‌کند. برای پی بردن به میزان فعالیت این آنزیم از میزان اکسیژن آزادشده استفاده می‌شود. اگر اکسیژن آزادشده زیاد باشد

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بیشتر خواهد بود (۱۹). در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. این کاهش ممکن است به دلیل افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در شرایط تنش شوری باشد که باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌گردد (۱۱). تنش شوری در گیاه برنج باعث کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌گردد (۲۵) همچنین در غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کیتوزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده که این حالت در گیاه برنج (*Oryza sativa* L.) گزارش‌شده است (۲۹).

در مطالعه حاضر، در سطح شوری ۳۵ دسی زیمنس بر متر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش معنی‌داری نشان داد. در برخی گیاهان گزارش‌شده است که با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش، فعالیت آسکوربات پراکسیداز افزایش‌یافته است (۱۱). در تأیید یافته‌های به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر، Lee و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت شرایط شوری افزایش می‌یابد (۲۵). در بررسی اثر کیتوزان بر فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گیاه خرفه، غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان افزایش معنی‌دار و غلظت ۰/۲ گرم در لیتر کاهش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد نشان داد حسنلو و همکاران (۱۳۹۴) با تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت ریشه‌های مویین خار مریم (*Silybum marianum*) نشان دادند که کیتوزان میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش می‌دهد که در توافق با یافته‌های ما در این پژوهش می‌باشند (۲). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی تغییر می‌کند (۲۸) در لوبیا، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش شوری در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (۳۱) که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. محققان در بررسی گیاه آفتابگردان تحت تنش شوری گزارش کردند که میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تیمار با کیتوزان افزایش یافته (۲۱) که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. . به نظر می‌رسد در تیمار همزمان شوری ۲۵ و ۳۵ دسی زیمنس بر متر و دو غلظت کیتوزان، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز به صورتی عمل کردند که کاهش یکی از آنها، باعث افزایش فعالیت آنزیم دیگر شده تا بتواند از میزان آب اکسیژنه بکاهد و با کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو، مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو در گیاه را افزایش دهد.

آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی: ترکیبات فنلی نقش مهمی در کاهش و یا مهار اتو اکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی یا تجزیه‌ی پراکسیدها دارند. این ترکیبات به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای حفاظت علیه تکثیر و پیشروی زنجیره‌ی اکسیداتیو و دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌نمایند. در مطالعه حاضر، محتوای فنل اختلاف معنی‌داری با شاهد در شرایط تنش نشان نداد که ممکن است به دلیل افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط تنش باشد. مقدار کل فنل گیاه توتون تحت تنش شوری نیز اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد (۱) که با نتایج ما هم‌خوانی دارد ملک پور و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که کیتوزان باعث افزایش معنی‌داری در میزان فنل گیاه ریحان شده که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (۵).

محتوای آنتوسیانین: آنتوسیانین‌ها گروه بزرگی از رنگدانه‌های محلول در آب می‌باشند که در تمام بافت‌های گیاهی وجود داشته و از خانواده فلاونوئیدها می‌باشند. از نقش‌های اصلی آنتوسیانین‌ها می‌توان به نقش آنتی‌اکسیدانی و محافظت سیستم فتوسنتزی در برابر فتواکسیداسیون اشاره نمود که در گیاهان در معرض تنش نقش محافظتی ایفا می‌کنند (۲۰). در این مطالعه میزان آنتوسیانین در تیمار شوری کاهش معنی‌داری داشته است. کاهش آنتوسیانین با

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

نتایج یحیی‌آبادی و همکاران (۱۳۹۵) روی شنبلیله همخوانی دارد (۷). عدم افزایش در بیوسنتز آنتوسیانین‌ها را می‌توان نتیجه آثار سمی سدیم در تنش شوری و یا آثار بازدارندگی تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری نسبت داد. توسعه آنتوسیانین، هماهنگ با تجزیه کلروفیل، به بیشترین حد خود می‌رسد. حتی اگر ژن لازم برای ساخته‌شدن آنتوسیانین وجود داشته باشد تا شرایط محیطی مطلوب نباشد، ساخته‌شدن آن انجام نمی‌پذیرد. همچنین، تشکیل آنتوسیانین‌ها در گیاهان معمولاً با تجمع قندها صورت می‌پذیرد و هر عاملی که سبب افزایش قند در گیاه شود، اغلب ساخته‌شدن آنتوسیانین را رونق می‌بخشد (۳) که این دلایل می‌تواند توجیهی برای افزایش میزان آنتوسیانین در سطح شوری ۳۵ نسبت به ۲۵ دسی‌زیمنس‌برمتر باشد چون در این مطالعه میزان قندهای محلول در سطح شوری ۳۵ دسی‌زیمنس‌برمتر به بیش‌ترین میزان رسیده است (محتوای قند گزارش در این مقاله گزارش نشده است). در این مطالعه غلظت ۰/۴ گرم در لیتر کیتوزان باعث کاهش میزان آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شد درحالی‌که غلظت ۰/۲ گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد که ممکن است به خاطر خواص آنتی‌اکسیدانی کیتوزان باشد. پیش تیمار بذرهای شنبلیله با کیتوزان باعث افزایش میزان آنتوسیانین شد که با یافته‌های ما در این پژوهش هم‌خوانی دارد (۷).

در این مطالعه میزان فلاونوئید در شرایط تنش در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونوئیدها در جاروب گونه‌های فعال اکسیژن شناخته‌شده است (۴۲). در *Hordeum vulgare* نیز اعمال شوری منجر به افزایش فلاونوئیدها شد (۱۰) که در توافق با یافته‌های ما می‌باشد. همچنین در این پژوهش کاربرد کیتوزان باعث کاهش میزان فلاونوئید گردید. گزارش‌شده است که کیتوزان از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم PAL کلیدی مسیر تولید مشتقات فنیل پروپانوئیدی باعث افزایش آنتوسیانین در گیاه می‌شود (۱۴) از طرفی افزایش مقاومت در برابر تنش اکسیداتیو ممکن است در ارتباط با خواص آنتی‌اکسیدانی کیتوزان باشد. کیتوزان ممکن است باعث فعال شدن ژن‌های جدیدی شود که آنزیم‌ها و درنهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی تنش شوری و کیتوزان نشان داد که گیاه خرفه تا حد زیادی به شوری مقاومت دارد. تیمار شوری در سطح ۲۵ دسی‌زیمنس‌برمتر باعث بهبود رشد در گیاه خرفه گردید. کاربرد کیتوزان با غلظت ۰/۲ گرم در لیتر بر پروتئین اثر مثبت داشته است یعنی کیتوزان با بالا بردن فاکتورهای بیوشیمیایی باعث بهبود رشد شده است. در بررسی اثر کیتوزان بر روی ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در سطح شوری ۲۵ دسی‌زیمنس‌برمتر، کیتوزان با غلظت ۰/۲ گرم‌درلیتر اثر تنش اکسیداتیو را کاهش داد. این مسئله به‌ویژه در اندازه‌گیری فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و آسکوربات پراکسیداز به‌خوبی مشاهده شد... به نظر می‌رسد که گیاه خرفه این پتانسیل را داراست که به‌عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند در مناطق شور موردتوجه قرار گیرد. همچنین می‌توان از کیتوزان به‌عنوان یک پلیمر زیستی بی‌خطر در افزایش مقاومت به تنش شوری استفاده نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد تحت عنوان "بررسی اثر کیتوزان و تنش شوری روی شاخص‌های فیزیولوژیکی و برخی ترکیبات شیمیایی گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.)" بوده که با اعتبار مالی دانشگاه خوارزمی انجام شده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از کلیه همکاران مرتبط با این تحقیق در گروه علوم گیاهی دانشکده علوم زیستی سپاسگزاری نمایند.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
مقاله پژوهشی

منابع

۱- حاجی بلند، ر. ابراهیمی، نشمین. (۱۳۹۰). تأثیر پلی آمین فنل های اگزوژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم ها توتون در گیاه تحت تنش شوری. زیست‌شناسی گیاهی.۳ (۸): ۱۳-۲۶.

۲- حسنلو، ط. اسکندری، س. نجفی، ف. (۱۳۹۴). نقش کیتوزان در افزایش تولید فلاونولیگنان‌ها در کشت ریشه‌های مویین خار مریم (*Silybum marianum*).مجله سلول و بافت. ۶(۳): ۲۶۷-۲۵۷.

۳- دولتیان، ن.(۱۳۹۲). اثر اسید هیومیک بر صفات کمی و کیفی توت‌فرنگی رقم سلوا در شرایط گلخانه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد.

۴- رحیمی، ز. کافی ، م. نظامی، ا. خزاعی، ح. (۱۳۹۰). تأثیر سطوح شوری و سیلیسیم بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) . فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۷. شماره۳. ۳۷۴-۳۵۹.

۵- ملک پور، ف.ا . سلیمی، ع. پیربلوطی.۱۳۹۵ . قاسمی تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کم آبی. .مجله علمی- پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی ۸(۲۷) ۵۶-۷۱.

۶- نجفیان، ش. (۱۳۸۹). برهمکنش سالیسیلیک اسید و شوری بر ویژگی های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی آویشن باغی (*Thymus vulgar* L.) و اکلیل کوهی *Rosmarinus officinalis* L.)، پایان نامه دکتری. دانشگاه شیراز.

۷- یحیی آبادی، م. اصغری پور، م. بصیری، م.(۱۳۹۵). نقش کیتوزان در بهبود مقاومت به شوری از طریق تاثیر بر برخی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه شنبلیله. ۱۷۴-۱۶۵.

8- Alarcón J, Morales M, Ferrández T, Sánchez-Blanco M 2006 Effects of water and salt stresses on growth, water relations and gas exchange in *Rosmarinus officinalis*, The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 81(5):845-853.

9- Alebrahim M, Sabaghnia N, Ebadi A, Mohebodini M 2004 Investigation the effect of salt and drought stress on seed germination of thyme medicinal plant, *Thymus vulgaris* 1:13-20.

10- Ali R, Abbas H 2003 Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea, Plant Soil and Environment 49(4):158-162.

11- Arora A, Sairam R, Srivastava G 2002 Oxidative stress and antioxidative system in plants, Current science: 1227-1238.

12- Bhutta W 2011 Antioxidant activity of enzymatic system of two different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars growing under salt stress, Plant Soil and Environment 57(3):101-107.

13- Bradford MM 1976 A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, Analytical Biochemistry 72(2):248-254.

14- Chakraborty M, Karun A, Mitra A 2009 Accumulation of phenylpropanoid derivatives in chitosan-induced cell suspension culture of *Cocos nucifera*, Journal of Plant Physiology 166(1):63-71.

15- Cros V, Martínez-Sánchez J, Fernández J 2006 Salinity effects on germination and yield of purslane (*Portulaca oleracea* L.) in a hydroponic floating system, In: VIII International Symposium on Protected Cultivation in Mild Winter Climates: Advances in Soil and Soilless Cultivation under 747, 571-579.

16- Dhindsa R, Plumb-Dhindsa P, Thorpe T 1981 Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase, Experimental Botany 32(1):93-101.

17- Diaz C, Saliba-Colombani V, Loudet O, et al. 2006 Leaf yellowing and anthocyanin accumulation are two genetically independent strategies in response to nitrogen limitation in *Arabidopsis thaliana*, Plant and Cell Physiology 47(1):74-83.

18- El-Sayed M-IK 2011 Effects of *Portulaca oleracea* L. seeds in treatment of type-2 diabetes mellitus patients as adjunctive and alternative therapy, Journal of Ethnopharmacology 137(1):643-651.

19- Grieve C, Francois L, Maas E 1994 Salinity affects the timing of phasic development in spring wheat, Crop Science 34(6):1544-1549.

20- He F, Mu L, Yan G-L, et al. 2010 Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes, Molecules 15(12):9057-9091.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6

21- Jabeen N, Ahmad R 2013 The activity of antioxidant enzymes in response to salt stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings raised from seed treated with chitosan, Journal of the Science of Food and Agriculture 93(7):1699-1705.

22- Kar M, Mishra D 1976 Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence, Plant physiology 57(2):315-319.

23- Kenawy E-R, Worley S, Broughton R 2007 The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review, Biomacromolecules 8(5):1359-1384.

24- Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM 1998 Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce, Physiologia Plantarum 103(1):1-7

25- Lee DH, Kim YS, Lee CB 2001 The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.), Journal of plant physiology 158(6):737-745.

26- Ma L, Li Y, Yu C, et al. 2012 Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress, Protoplasma 249(2):393-399.

27- Mahdavi B, Modarres Sanavy SAM, Aghaalikhani M, Sharifi M, Dolatabadian A 2011 Chitosan improves osmotic potential tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings, Journal of Crop Improvement 25(6):728-741.

28- Manohan D, Wai WC 2012 Characterization of polyphenol oxidase in sweet potato (*Ipomoea Batatas* L.), Journal for the Advancement of Science and Arts 3(1): 14-31.

29- Martínez González L, Reyes Guerrero Y, Falcón Rodríguez A, Núñez Vázquez M 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.

30- Masoodi MH, Ahmad B, Mir SR, Zargar BA, Tabasum N 2011 *Portulaca oleracea* L. a review, Journal of Pharmacy Research 4(9):3044-3048.

31- Mehr ZS, Bahabadi SE 2013 Physiological and antioxidant responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to salinity, International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS) 5(4):344-348.

32- Munns R, Tester M 2008 Mechanisms of salinity tolerance, Annual Review Plant Biology 59:651-681.

33- Muthukumarasamy M, Gupta SD, Panneerselvam R 2000 Influence of triadimefon on the metabolism of NaCl stressed radish, Biologia Plantarum 43(1):67-72.

34- Parida AK, Das AB 2005 Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, Ecotoxicology and Environmental Safety 60(3): 334-349.

35- Sheikha S, Al-Malki F 2011 Growth and chlorophyll responses of bean plants to the chitosan applications, European Journal of Scientific Research 50(1):124-134.

36- Singleton VL, Rossi JA 1965 Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents, American Journal of Enology and Viticulture 16(3):144-158.

37-Taarit MB, Msaada K, Hosni K, Hammami M, Kchouk ME, Marzouk B 2009 Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions, Industrial Crops and Products 30(3):333-337.

38- Uthairatanakij A, Teixeira da Silva J, Obsuwan K 2007 Chitosan for improving orchid production and quality, Orchid Science and Biotechnology 1(1):1-5 .

39-Walker B, Holling CS, Carpenter SR, Kinzig A 2004 Resilience, adaptability and transformability in social–ecological systems, Ecology and society 9(2):5-13.

40- Yazici I, Türkan I, Sekmen AH, Demiral T 2007 Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation, Environmental and Experimental Botany 61(1):49-57.

41-Yin H, Fretté XC, Christensen LP, Grevsen K 2012 Chitosan oligosaccharides promote the content of polyphenols in Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. hirtum), Journal of agricultural and food chemistry 60(1):136-143.

42-Zhao X, Tan H, Liu Y, Li X, Chen G 2009 Effect of salt stress on growth and osmotic regulation in Thellungiella and Arabidopsis callus, Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) 98(1):97-103.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6

Role of chitosan in reducing the effects of salinity stress through enzymatic and non-enzymatic antioxidants in *Portulaca oleracea* L.

Khosravi E., Salimi A.*, Chavoushi M. and zeidi H.

Dept. of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

Abstract

Portulaca oleracea L. is a medicinal plant of the family Portulacaceae. Salinity stress is one of the most important factors limiting the growth and development of plants, especially in arid and semi-arid regions. Chitosan is a biological elicitor and is a major component of the cell wall of many species of fungi. In this study effects of salinity and chitosan stress on physiological parameters and growth parameters of the *Portulaca oleracea* L were studied. The experiment was arranged in a randomized complete design with 3 replications. For this purpose, the plant was exposed to different treatments of NaCl (0, 25 and 35 ds m^{-1}), chitosan (0, 0.2 and 0.4 g l^{-1}) Plants were harvested after treatment. Different morphological and physiological parameters were studied for different treatments. By measuring growth parameters and according to broiler and halophytic characteristics of the plant, the salinity 25 ds m^{-1} as a favorable growth and salinity 35 dsm^{-1} showed a decrease in growth in the plant. Salinity stress increased catalase enzyme activity, peroxidase, polyphenoloxidase and flavonoid content but reduced anthocyanine. Interaction of salinity and Chitosan increased growth of purslane, phenol, peroxidase, polyphenoloxidase enzyme activity and reduced catalase enzyme activity and anthocyanine content. In this study chitosan is improving agent in stress conditions and improved the physiological and biochemical traits associated with oxidative stress. Considering the growing salinity of the country, it is important to use the elicitors, especially chitosan, as a biopolymer that reduces the effects of salinity stress on the *Portulaca oleracea* L.

Key words: osmotic stress, flavonoid, catalase, peroxidase, *Portulaca oleracea* L.