

بررسی تأثیر کیتوزان بر بیان ژن *PIP* گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

تحت تنش شوری

حدیث مختاری^۱، منیره رنجبر^{۱*} و علی محمد احدی^۲

^۱ ایران، اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست‌شناسی

^۲ ایران، شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، دانشکده علوم، گروه ژنتیک

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۷

چکیده

با توجه به افزایش املاح در خاکهای کشاورزی، گیاهان زراعی با تنش شوری مواجه می‌شوند. از طرفی کلزا گیاهی مهم از نظر صنایع روغن می‌باشد. لذا استفاده از موادی که بتوانند به گیاه جهت تحمل محیطهایی با املاح بالا کمک کنند ضروری بنظر می‌رسد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر کیتوزان روی بیان ژن *PIP*، پارامترهای رشدی و ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت تنش شوری بود که در آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. بدین منظور گیاهچه‌های کلزا تحت تیمارهای شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار)، سطوح مختلف کیتوزان (۰، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) قرار گرفتند. بیان ژن *PIP* با استفاده از روش Real Time PCR تعیین شد. درصد و سرعت جوانه زنی، طول و وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها و میزان عناصر سدیم و پتاسیم مورد بررسی قرار گرفت. در تنش شوری، تیمار با کیتوزان باعث افزایش بیان ژن *PIP* شده بطوری که بیشترین میزان بیان ژن در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار شوری همراه با ۵ میلی گرم در لیتر کیتوزان دیده شد. اثر تیمار شوری توأم با کیتوزان بر درصد و سرعت جوانه زنی در سطح یک درصد معنی دار بود. کیتوزان در تنش شوری باعث افزایش طول و وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، محتوای نسبی آب برگ و میزان عنصر پتاسیم شد. بخصوص در غلظتهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نمک همراه با کیتوزان نسبت به تیمار شوری در همان غلظت تأثیر مشخص تر بود. در این تیمارها نشت الکترولیت و میزان سدیم کاهش یافت. احتمال می‌رود کیتوزان تحت تنش شوری و با تغییر بیان ژنها، از طریق حفظ محتوای نسبی آب برگ، افزایش پتاسیم و رشد بخش هوایی و ریشه شرایط زیست گیاه را بهبود بخشیده و باعث افزایش تحمل گیاه شده است.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، جوانه زنی، کلزا، محتوای آب، نشت الکترولیت

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: ranjbar@iaufala.ac.ir

مقدمه

مرگ گیاه می‌شود. مهمترین واکنش گیاه به افزایش شوری خاک، توقف رشد رویشی گیاه و توسعه برگ می‌باشد (۱۲). تنش شوری باعث یک سری تغییرات فیزیولوژیکی بیوشیمیایی در دانه می‌شود که می‌تواند جوانه‌زنی بذر را از طریق تنش اسمزی، سمیت یونی و تنش اکسیداتیو تحت تأثیر قرار دهد (۴۱). تنش شوری رشد گیاه را از طریق

شوری یکی از مهمترین تنشهای غیرزیستی است که رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۷). تغییرات در رشد گیاه نتیجه تأثیر زیان‌آور شوری بر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه می‌باشد که شامل سمیت یونی، تنش اسمزی و تنش اکسیداتیو می‌باشند. شوری باعث کاهش رشد ریشه، جوانه و کاهش عملکرد و در نهایت منجر به

موجب افزایش طول ریشه، وزن خشک ریشه شده است (۴۴). همچنین تیمار کیتوزان موجب افزایش میزان پتاسیم و کاهش میزان سدیم ساقه هم در شرایط بدون تنش و هم تنش شده و میزان پتاسیم ریشه در گیاهان باقلا تیمار شده با کیتوزان نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است (۴۲). مطالعات موسی پور و همکاران (۱۳۹۵) در تأثیر کیتوزان بر روی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت تنش شوری نشان داد که افزایش شدت تنش شوری باعث کاهش خصوصیات رشد، محتوای نسبی آب برگ شد. در حالی که کاربرد ۰/۵ گرم در لیتر کیتوزان موجب افزایش وزن خشک گیاه، طول ساقه و ریشه و محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش شوری، نسبت به شاهد گردید (۴). Zhu و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی‌های خود نشان دادند که شوری در غلظت ۱۰۰ میلی مولار باعث القاء بیان ژن *ZmPIP* و درغلظتهای ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار منجر به کاهش بیان ژن در ریشه‌های ذرت شده است (۵۱). Zhang و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که بیان بالای *ATLOS5* می‌تواند رونوشت‌های *PIP1:1 (Zm)*، *PIP1:5 (Zm)* و *PIP2:4 (Zm)* را تنظیم و هدایت هیدرولیک ریشه، شار یونی ریشه، جذب آب و حفظ میزان بالایی از سدیم و پتاسیم در گیاهان تراریخته تحت تنش شوری را بهبود بخشد. از آن جایی که کلزا یکی از دانه‌های روغنی پرمصرف بوده و بیشتر خاک‌های مناطق مختلف ایران شور است بنابراین احتمال دارد استفاده از ترکیباتی همچون کیتوزان با تأثیر بر بیان برخی ژنها از جمله *PIP* بتواند اثرات شوری را کاهش داده و از کاهش محصول آن جلوگیری نماید (۴۹). هدف از این تحقیق بررسی نقش حفاظتی کیتوزان بر جوانه زنی، رشد، روابط آبی و تعادل یونهای سدیم و پتاسیم در گیاه کلزا در محیطهایی با غلظت نمک بالا است.

مواد و روشها

سمیت یونی ناشی از تجمع نمک در برگ‌ها تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعادل و تناسب درون سلولی یون‌های K^+ و Na^+ برای فعالیت بسیاری از آنزیم‌های سیتوسولی، حفاظت از پتانسیل غشایی و نیز به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی مناسب برای تنظیم حجم سلول بسیار مهم هستند (۲۱). اثرات منفی شوری بر روی رشد گیاهان از طریق کاهش دسترسی گیاه به آب (تنش اسمزی یا خشکی)، کاهش جذب عناصر ضروری (عدم تعادل تغذیه‌ای) و تجمع بیش از حد یون‌ها ایجاد می‌شود (۲۸). دانه‌های روغنی پس از غلات، دومین ذخایر غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. کلزا یکی از مهمترین گیاهان دانه روغنی است که در سال‌های اخیر در ایران مورد توجه ویژه قرار گرفته است (۳۳). کلزا با نام علمی *Brassica napus* L.، گیاهی از خانواده تیره شب بو یا چلیپائیان (*Brassicaceae*) است. ویژگی‌های که کلزا را نسبت به سایر دانه‌های روغنی متمایز می‌کند صفات مطلوب زراعی (کیفیت بالای روغن دانه، مقادیر زیاد اسیدهای چرب اشباع نشده به خصوص اسید اولئیک و لینولئیک)، تحمل به تنش‌های محیطی (سرما، کمبود آب، شوری)، عملکرد بیشتر در واحد سطح نسبت به دانه‌های روغنی مورد کشت در کشور است (۳). یکی از روشهای کاهش اثرات منفی تنش‌ها استفاده از محرک‌ها با منشأ زیستی و غیرزیستی است که منجر به تغییرات فیزیولوژیکی در گیاهان شده و عملکرد و کیفیت آن‌ها را افزایش داده و باعث افزایش تحمل به عوامل نامساعد محیطی می‌شوند (۴۱). از محرک‌های قارچی می‌توان به کیتین و کیتوزان اشاره کرد. مهدوی در سال ۲۰۱۳ به بررسی اثر کیتوزان و شوری بر جوانه‌زنی گیاه (*Plantago ovata* Forsk) پرداخت نتایج نشان داد شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی در گیاه شده در حالی که کیتوزان درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی افزایش داده است (۳۰). تیمار گوجه فرنگی با کیتوزان طول ساقه، وزن خشک ساقه و محتوای نسبی آب را افزایش داده و در شرایط تنش شوری، تیمار کیتوزان

(۴۷). از دو برگ ۳ دیسک با قطر ۱ سانتی متر وزن گردید (FW). سپس دیسک‌ها در پتری حاوی آب مقطر به مدت ۴-۵ ساعت غوطه ور شد. دیسک‌ها پس از این مدت از پتری خارج و با استفاده از کاغذ صافی خشک و دوباره وزن گردید تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW)، دیسک‌ها درون فویلی آلومینیوم پیچیده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرارگرفت و سپس وزن شد. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۴: } \text{RWC (\%)} = ((\text{FW}-\text{DW})/(\text{TW}-\text{DW})) \times 100$$

FW وزن تر DW وزن خشک TW وزن تورژسانس کامل
سنجش نشت الکترولیت‌ها: ابتدا قسمتی از بافت تازه گیاه برداشته و ۱۵ عدد دیسک تهیه و داخل ظروف دربدار گذاشته شد. سپس به میزان ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به آنها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. سپس هدایت الکتریکی محلول توسط هدایت سنج الکتریکی (Inob1, Japon) اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در این دما قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه‌ها از حمام آب جوش خارج در دمای اتاق خنک شدند. در این زمان مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و از رابطه زیر نشت‌پذیری غشاء سلولی محاسبه شد (۳۷).

$$\text{رابطه ۵: } (E1 / E2) \times 100 = \text{نشت پذیری}$$

E1: هدایت الکتریکی محلول قبل از جوشاندن E2: هدایت الکتریکی محلول بعد از جوشاندن

اندازه‌گیری عناصر معدنی: برای اندازه‌گیری مقدار عناصر در گیاهان از روش Reeves و Smith (۲۰۰۹) استفاده شد (۳۸). ابتدا بخش‌های هوایی از قسمت طوقه از ریشه جدا و ۳ بار با آب مقطر شستشو شدند. نمونه‌ها در داخل آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰°C خشک شد سپس حدود

کشت و تیماردهی: بذر هیبرید آلمان رقم روهان از شرکت آرمان سبز آدینه اصفهان تهیه شد و در گلدان‌های حاوی کوکویت و پرلیت به نسبت مساوی در شرایط کنترل شده در ۴ غلظت شوری (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) به علاوه ۳ غلظت کیتوزان (۰، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) در سه تکرار کشت شد. با رشد گیاه و رسیدن به مرحله سه برگچه‌ای تیماردهی به صورت یک روز در میان با محلول کلرید سدیم و کیتوزان تا زمان برداشت، آغاز شد. بعد از گذشت ۴ هفته اندام‌های هوایی (۴۸ ساعت پس از آخرین تیمار) به منظور ارزیابی بیان ژن *PIP* وزن تر و خشک و طول ساقه و ریشه، محتوای نسبی آب، نشت الکترولیت و عناصر سدیم و پتاسیم جدا شده و مورد بررسی قرارگرفتند. درصد و سرعت جوانه زنی، نیز در پلیت طی هشت روز اندازه‌گیری شد.

درصد و سرعت جوانه زنی بذور: پانزده عدد بذر سالم داخل پلیت ۸ سانتیمتری تیمار شده و به مدت ۸ روز در دمای ثابت ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ژرمیناتور نگهداری شد. برای سنجش درصد و سرعت جوانه زنی از رابطه زیر استفاده شد (۴۳).

$$\text{رابطه ۱: } \text{درصد جوانه زنی} = \Sigma G / N$$

$$\text{رابطه ۲: } \text{سرعت جوانه زنی} = \Sigma Ni / D$$

G = تعداد بذر جوانه زده N = تعداد کل بذرها Ni = تعداد کل بذرهای جوانه زده D = تعداد روز شمار تا n ام (مدت زمانی که شمارش بذرهای جوانه زده انجام شده است)

طول و وزن تر و خشک ریشه و ساقه: پس از اتمام تیماردهی، به طور تصادفی میانگین طول ۱۰ گیاه تعیین شد. پس از تعیین وزن تر، نمونه‌ها داخل آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت خشک و وزن آنها تعیین شد (۵).

محتوای نسبی آب برگ (RWC): اندازه‌گیری این شاخص به روش Weatherley (۱۹۷۳) انجام گرفت

۰/۱ گرم از ماده خشک هر نمونه را وزن و با ۲ میلی لیتر اسید نیتریک سائیده و به مدت ۱۴ ساعت در کوره الکتریکی در دمای 160°C قرار داده شد. به خاکستر حاصل پس از سرد شدن ۳-۴ میلی لیتر آب مقطر اضافه نموده محلول حاصل را صاف و جذب توسط دستگاه طیف سنجی جذب اتمی Agilent 240 FSAA تعیین شد.

جداسازی RNA و سنتز cDNA: استخراج RNA کل با استفاده از روش لیتیوم کلراید انجام گرفت (۳۱). صد میلی گرم از بافت در هاون چینی استریل سرد مستقیماً با بافر لیز و یک میلی لیتر از بافر استخراجی لیتیوم کلراید به هر نمونه اضافه شد. ۸۰۰ میکرولیتر از مخلوط فنل اشباع شده با بافر تریس به اضافه کلروفرم و ایزوآمیل الکل به ترتیب به نسبت ۱:۲۴:۲۵ به هر نمونه اضافه شد. مخلوط حاضر به مدت یک دقیقه ورتکس و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. مایع رویی را به میکروتیوب جدید منتقل کرده و هم حجم آن لیتیوم کلراید ۴M اضافه شد. نمونه ها به مدت ۴ ساعت در دمای -20°C درجه سلسیوس قرارگرفت. سپس در دمای ۴ درجه و در دوره ۱۴۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل را در ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حل نموده به آن ۲ حجم اتانول سرد (۸۰۰ میکرولیتر) و ۴۰ میکرولیتر استات سدیم ۳M ($\text{pH} = 5/4$) اضافه شد. دوباره میکروتیوب ها در ۱۴۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتریفیوژ شدند. رسوب حاصل را با اتانول ۷۰ درصد شستشو داده و بعد از خشک شدن میکروتیوب ها، رسوب در ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل حل گردید. RNA در دمای -20°C درجه به مدت کوتاه و در دمای -80°C درجه به مدت طولانی قابل نگهداری است. کیفیت RNA از طریق اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگار تعیین شد.

سنتز cDNA از mRNA تام با استفاده از کیت شرکت Addbio و مراحل بر پروتکل شرکت انجام گرفت ابتدا μl

۲/۵ RNA، ۰/۵ μl mix dNTP، ۰/۵ μl oligo dT، ۰/۵ μl random hexamer در یک ویال ۰/۲ مخلوط و در دستگاه PCR در دمای 70°C به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس ویال از دستگاه خارج شده و به مدت ۲ دقیقه در یخ قرارگرفت. در نهایت به هر ویال ۰/۵ μl آنزیم ریورس ترانسکریپتاز، ۵ μl بافر 2X و ۰/۵ μl Rnasin اضافه شد و ویال در دستگاه قرار داده شد و در دماهای 25°C به مدت ۱۰ دقیقه، 42°C به مدت ۵۰ دقیقه، 80°C به مدت ۱ دقیقه و در نهایت ۱۰ دقیقه به مدت ۱ دقیقه انکوبه انجام شد. تمام cDNAها در دمای -20°C نگهداری شدند. روش Real-time RT-PCR که به نام RT-qPCR نیز نامیده می‌شود، به طور گسترده در بررسی‌های کمی بیان ژن به کار می‌رود. ویژگی کلیدی Real-time RT-PCR، فراهم شدن امکان بررسی تکثیر قطعات DNA همزمان با انجام گرفتن آزمایش و با استفاده از گزارشگرهای فلوروسنت می‌باشد. مکانیسم واکنش مشابه PCR معمولی است به گونه ای که در هر سیکل تعداد نسخه‌های تکثیر شده دو برابر می‌شود. تفاوت PCR معمولی با روش Real-time RT-PCR در این است که در سیستم Real-time با به کار بردن رنگهای فلوروسنت، پیگیری آن‌ها در خلال واکنش و مشاهده تغییرات جذب فلوروسنت می‌توان پیشرفت واکنش را لحظه به لحظه کنترل کرد؛ در حالی که در واکنش PCR معمولی نتایج تنها بعد از اتمام واکنش، به وسیله انتقال نمونه ها بر بروی ژل قابل مشاهده است. پس از پایان واکنش Real time PCR، عددی به نام سیکل آستانه Ct به دست می‌آید. Ct نشان دهنده سیکلی از واکنش است که در آن میزان فلوروسنسی به آستانه تشخیص دستگاه رسیده است. واضح است که هرچه میزان الگوهای آغازگر بیشتر باشند، سریع‌تر به آستانه خواهیم رسید و بنابراین Ct و سیکل آستانه نیز کمتر خواهد شد. بعد از رسم خط تری شولد، مقادیر (Cycle hreshold Ct) حاصل از نمودارهای تکثیر از نرم افزار gene Rotor به محیط Excel انتقال داده شد و پس از

بدین منظور توالی mRNA ژنهای مذکور با مراجعه به پایگاه اطلاعات ژنی NCBI گرفته شد. در مرحله بعد با کمک نرم افزار Generunner پرایمرهایی با ویژگیهای مناسب از نظر دمایی و درصد GC و برخی پارامترهای دیگر طراحی شد. در این تحقیق از ژن Ribosomal 16s RNA به عنوان ژن مرجع استفاده شد (جدول ۱).

مرتب سازی در محیط Gen Ex، داده ها براساس تغییرات بیان ژن خانه دار (کنترل داخلی) آکوپورین ذرت و مطابق فرمول زیر محاسبه شد و سپس با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مورد مقایسات آماری و رسم نمودار قرار گرفت (۱۶).

طراحی پرایمر: در این پژوهش برای انجام روش Real-time RT-PCR بر روی ژن PIP طراحی پرایمر انجام شد.

جدول ۱- توالی جفت آغازگرهای استفاده شده برای RT-PCR

Genes	Primer Sequence
BnPIP1,2-FWD	5'-CCGGTATCTCTGGTGGTCAC-3'
BnPIP1,2-REV	5'-CCCAACTCCACATATCGCAC-3'
GAPDH-FWD	5'-GTATGGTCGCAAGGCTGAAAC-3'
GAPDH-REV	5'-GAGCTCTCAGTCTGTCAATCC-3'

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی (شکل ۱) بیانگر آن است که با افزایش غلظت شوری درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است. غلظت ۵۰ میلی‌مولار کاهش زیادی بر روی درصد جوانه‌زنی بذر گیاه کلزا نداشته در حالی که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری کاهش قابل توجهی در درصد جوانه زنی مشاهده شد استفاده توام از کیتوزان و شوری سبب افزایش درصد جوانه زنی نسبت به شوری در همان غلظت شوری شد.

سرعت جوانه زنی (جدول ۴) نشان می‌دهد که با افزایش تعداد روزهای جوانه زنی سرعت جوانه‌زنی افزایش یافته است. با توجه به جدول در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار تا روز چهارم سرعت جوانه زنی صفر بوده و روز ششم جوانه زنی آغاز شده است. در شوری ۵۰ میلی‌مولار از روز دوم تا روز ششم جوانه زنی افزایش داشته ولی در روز هشتم کاهش داشت. در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار بتریج سرعت جوانه زنی روند افزایشی داشت. در هر سه غلظت شوری به همراه کیتوزان در هر دو غلظت، بتدریج از روز دوم تا هشتم سرعت افزایش داشت.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار طراحی گردید. نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار آماری SPSS22 مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند. تجزیه واریانس با روش ANOVA و آزمون GLM (univariate) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس در جدولهای ۲ و ۳ آمده است. اثر تیمار توام شوری و کیتوزان بر بیان ژن، وزن تر بخش هوایی، وزن خشک بخش هوایی، طول ساقه، محتوی نسبی آب برگ، وزن تر ریشه در سطح پنج درصد و بر درصد جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، وزن خشک و طول ریشه، غلظت سدیم و پتاسیم در سطح یک درصد معنی دار است. این تیمار بر نشت الکترولیتها اثر معنی دار نداشته است.

اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی درصد و سرعت جوانه‌زنی: تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تأثیر شوری و کیتوزان و تیمار توام بر روی درصد جوانه زنی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود ($P < 0.01$). نتایج

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در گیاه کلزا تحت تأثیر تیمار توام شوری و کیتوزان

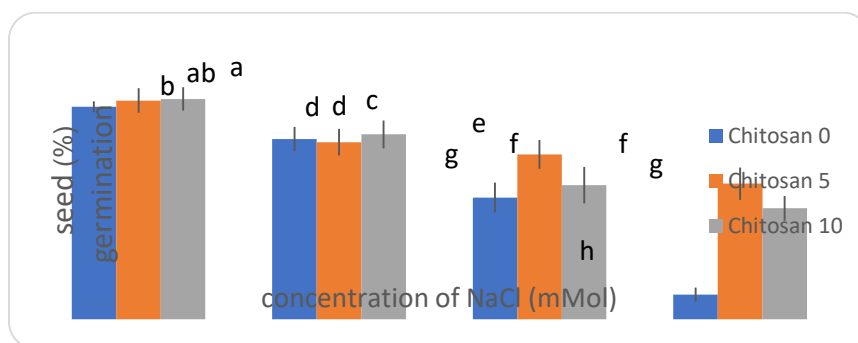
میانگین مربعات								منابع تغییرات
محتوای نسبی آب برگ RWC (%)	طول ساقه (cm)	وزن خشک بخش هوایی (gr)	وزن تریخش هوایی (gr)	سرعت جوانه زنی (\bar{R})	درصد جوانه زنی (%)	بیان ژن PIP	درجه آزادی	
۵۷/۳۰۱ *	۱۲/۷۳۳*	۰/۰۰۰ *	۰/۰۰۱ *	۱/۱۴۱ *	۲۸۰۰/۵۹۳**	۲۰/۰۴۰*	۳	شوری
۶۴/۲۸۸ *	۱۱/۰۵۸*	۰/۰۰۱ *	۰/۰۰۴*	۲/۴۳۰*	۱۰۶۴/۶۶۷**	۵/۷۱۸ ^{ns}	۲	کیتوزان
۱۲۰/۵۴۹ *	۷/۳۱۴*	۰/۰۰۰ *	۰/۰۰۱ *	۳/۱۷۵**	۴۵۴/۰۸۹**	۱۹/۰۰۱*	۶	شوری x کیتوزان
۲/۵۷	۰/۰۹	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۳	۳۵/۲۳	۱/۶۷		خطا

** و * به ترتیب وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns عدم وجود تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد. \bar{R} : سرعت جوانه زنی

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در گیاه کلزا تحت تأثیر تیمار توام شوری و کیتوزان

میانگین مربعات							منابع تغییرات
غلظت پتاسیم (mg/kg)	غلظت سدیم (mg/kg)	نشت الکترولیتها (%)	طول ریشه (cm)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن تر ریشه (gr)	درجه آزادی	
۲۰۸/۲۰۹**	۱۸۰۵/۲۱۶**	۵۳۹/۸۵۹ *	۱/۵۲۳*	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۸*	۳	شوری
۱۳۲/۰۸۰**	۳۶۳/۷۹۲**	۳۸۰۴/۲۳۶*	۵/۰۵۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۲*	۲	کیتوزان
۵۸/۷۸۳**	۱۷/۵۷۷**	۱۴۵/۷۵۷ ^{ns}	۳/۴۴۰**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۵*	۶	شوری x کیتوزان
۸/۴۶	۱/۳۹	۱۲/۷۴	۰/۰۶	۰/۰۰	۰/۰۰		خطا

** و * به ترتیب وجود تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و ns عدم وجود تفاوت معنی دار را نشان می‌دهد.



شکل ۱- مقایسه برهمکنش غلظت های شوری و غلظت های کیتوزان بر روی درصد جوانه زنی گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد. میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

ریشه، وزن خشک ریشه از نظر آماری در سطح ۱ درصد، بر وزن تر ریشه در سطح ۵ درصد معنی دار بود.

اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی طول، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی: با توجه به جدول تجزیه واریانس ۲ اثر شوری، کیتوزان و تیمار توام بر روی طول

جدول ۴- سرعت جوانه زنی در گیاه کلزا تحت تأثیر تیمار توام شوری و کیتوزان

انجراف معیار \pm میانگین	روز دوم	روز چهارم	روز ششم	روز هشتم	تیمارها
شاهد	$2/666 \pm 0/763^a$	$2/583 \pm 0/381^d$	$2/430 \pm 0/524^e$	$1/996 \pm 0/219^e$	
شوری ۵۰ میلی مولار	$2/666 \pm 0/577^a$	$3/833 \pm 1/181^b$	$4/363 \pm 0/620^a$	$3/206 \pm 0/261^b$	
شوری ۱۰۰ میلی مولار	$0/666 \pm 0/288^e$	$2/083 \pm 0/144^f$	$3/363 \pm 0/384^c$	$2/953 \pm 0/144^c$	
شوری ۱۵۰ میلی مولار	$0/000 \pm 0/000^f$	$0/000 \pm 0/000^f$	$0/840 \pm 0/170^h$	$0/456 \pm 0/188^f$	
کیتوزان ۵ میلی گرم در لیتر	$1/833 \pm 0/577^b$	$2/333 \pm 1/181^e$	$1/353 \pm 0/136^g$	$2/790 \pm 0/363^c$	
کیتوزان ۱۰ میلی گرم در لیتر	$1/666 \pm 0/577^c$	$2/166 \pm 0/877^f$	$1/943 \pm 0/509^f$	$2/453 \pm 0/520^d$	
شوری ۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	$2/166 \pm 0/763^{ab}$	$4/333 \pm 2/020^a$	$2/733 \pm 0/230^d$	$2/863 \pm 0/315^c$	
شوری ۱۰۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	$1/166 \pm 0/577^{de}$	$3/416 \pm 0/381^c$	$3/466 \pm 0/472^{bc}$	$1/996 \pm 0/219^e$	
شوری ۱۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	$0/333 \pm 0/577^f$	$2/666 \pm 0/381^d$	$3/620 \pm 0/470^b$	$3/536 \pm 1/154^{aa}$	
شوری ۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	$1/333 \pm 1/040^d$	$3/166 \pm 1/127^{cd}$	$3/340 \pm 0/750^c$	$3/306 \pm 0/310^{ab}$	
شوری ۱۰۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	$0/166 \pm 0/288^f$	$3/250 \pm 1/000^{cd}$	$3/660 \pm 0/285^b$	$3/500 \pm 0/866^a$	
شوری ۱۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	$0/000 \pm 0/000^f$	$2/333 \pm 0/629^e$	$2/976 \pm 0/365^d$	$3/123 \pm 0/575^b$	

شرایط شوری تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش داشته اما در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار تفاوتی با شاهد نداشت. تیمار توام شوری و کیتوزان باعث افزایش وزن تر بخش هوایی شد. وزن خشک اندام هوایی در سطح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش داشت. در شرایط تنش شوری به کاربرد کیتوزان منجر به افزایش میزان وزن خشک بخش هوایی گیاه کلزا به ویژه در غلظت های ۱۰۰ و ۱۵۰ شوری نسبت به همان غلظت شوری شده که بیشترین مربوط به شوری ۱۵۰ میلی‌مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی‌گرم‌درلیتر است (جدول ۵).

اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی نشت الکترولیتها: اثر شوری و کیتوزان و تیمار توام شوری و کیتوزان بر نشت الکترولیت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳) با بالا رفتن غلظت شوری میزان نشت الکترولیت افزایش یافته که نشان دهنده آسیب و کاهش پایداری غشاء می باشد. در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی‌گرم‌درلیتر بیشترین میزان نشت الکترولیت مشاهده شد و در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی‌مولار کاهش داشت (شکل ۲).

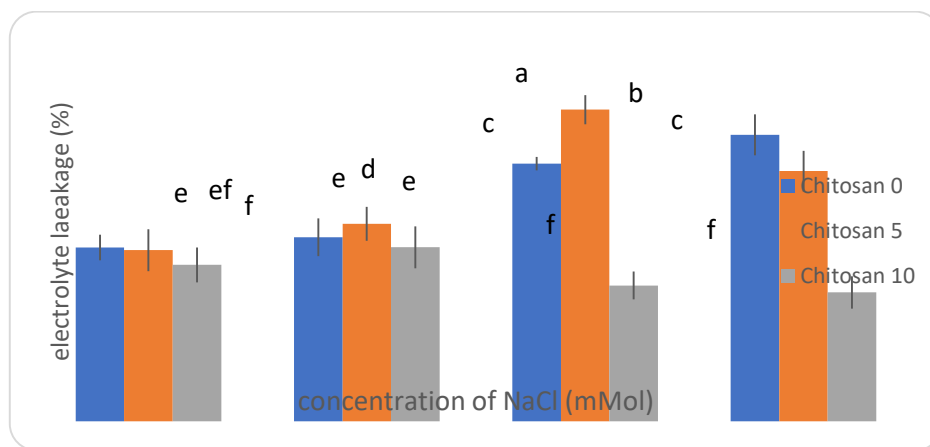
شوری باعث کاهش طول ریشه شده که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار بیشترین کاهش مشاهده شد. در استفاده همزمان کیتوزان و شوری طول ریشه در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و کیتوزان ۵ میلی‌گرم‌درلیتر افزایش داشت. در شرایط شوری میزان وزن تر ریشه در مقایسه با شاهد کاهش یافته است. در تیمار توام در مقایسه با همان غلظت شوری میزان وزن تر ریشه افزایش داشت. استفاده همزمان از کیتوزان بر روی گیاه کلزا تحت تنش شوری میزان وزن خشک ریشه را نسبت به تیمار شوری به تنهایی افزایش داده است. بیشترین افزایش در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار شوری همراه با کیتوزان ۵ میلی‌گرم‌درلیتر مشاهده شد. براساس تجزیه واریانس (جدول ۲) شوری کیتوزان و تیمار توام شوری و کیتوزان بر روی طول بخش هوایی، وزن تر و خشک بخش هوایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. شوری با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار در مقایسه با شاهد طول بخش هوایی را افزایش داده است در حالی که در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کاهش داشت. در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار همراه با کیتوزان در مقایسه با همان غلظت شوری افزایش داشت. میزان وزن تر بخش هوایی در

جدول ۵- طول، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی در گیاه کلزا تحت تأثیر تیمار توام شوری و کیتوزان

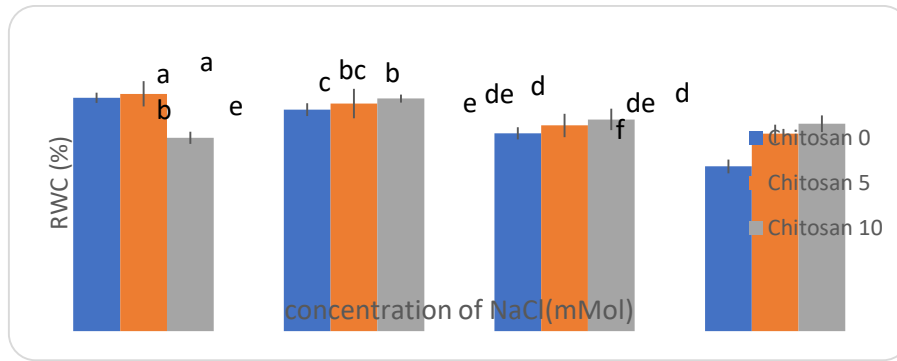
انجراف معیار \pm میانگین تیمارها	طول بخش هوایی	وزن تر بخش هوایی	وزن خشک بخش هوایی	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
شاهد	۱۱/۶۶ \pm ۱/۰۳۸ ^d	۰/۱۴۴ \pm ۰/۰۱۴ ^f	۰/۰۰۸ \pm ۰/۰۰۳ ^e	۱/۸۱۶ \pm ۰/۳۷۰ ^d	۰/۰۰۴ \pm ۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۰۱ \pm ۰/۰۰۰۳ ^e
شوری ۵۰ میلی مولار	۱۵/۱۲۰ \pm ۱/۰۳۳ ^a	۰/۱۸۹ \pm ۰/۰۲۶ ^c	۰/۰۱۱ \pm ۰/۰۰۳ ^c	۲/۴۲۰ \pm ۰/۴۵۲ ^f	۰/۰۰۶ \pm ۰/۰۰۲ ^e	۰/۰۰۱۵ \pm ۰/۰۰۰۴ ^f
شوری ۱۰۰ میلی مولار	۱۲/۹۵۳ \pm ۱/۶۶۶ ^c	۰/۱۸۸ \pm ۰/۰۰۸ ^c	۰/۰۱۰ \pm ۰/۰۰۶ ^d	۱/۴۶۰ \pm ۰/۴۲۰ ^e	۰/۰۰۴ \pm ۰/۰۰۱ ^f	۰/۰۰۱۰ \pm ۰/۰۰۰۳ ^b
شوری ۱۵۰ میلی مولار	۹/۱۳۳ \pm ۰/۹۰۷ ^e	۰/۱۵۰ \pm ۰/۰۲۱ ^f	۰/۰۰۹ \pm ۰/۰۰۵ ^e	۳/۰۱۶ \pm ۰/۶۷۴ ^b	۰/۰۰۶ \pm ۰/۰۰۳ ^f	۰/۰۰۱۳ \pm ۰/۰۰۰۴ ^b
کیتوزان ۵ میلی گرم در لیتر	۱۳/۸۴ \pm ۱/۴۲۹ ^b	۰/۱۸۴ \pm ۰/۰۱۲ ^c	۰/۰۱۰ \pm ۰/۰۰۱ ^d	۳/۵۳۳ \pm ۰/۴۸۰ ^c	۰/۰۰۵ \pm ۰/۰۰۱ ^e	۰/۰۰۱۲ \pm ۰/۰۰۰۳ ^c
کیتوزان ۱۰ میلی گرم در لیتر	۱۲/۵۷ \pm ۰/۳۵۷ ^c	۰/۱۷۴ \pm ۰/۰۲۳ ^d	۰/۰۰۹ \pm ۰/۰۰۱ ^e	۱/۸۳۶ \pm ۰/۲۸۱ ^e	۰/۰۰۶ \pm ۰/۰۰۰ ^d	۰/۰۰۱۳ \pm ۰/۰۰۰۱ ^e
شوری ۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	۱۲/۲۲ \pm ۰/۹۵۰ ^c	۰/۲۱۷ \pm ۰/۰۲۹ ^a	۰/۰۱۲ \pm ۰/۰۰۱ ^b	۳/۰۹۰ \pm ۰/۱۵۰ ^d	۰/۰۰۶ \pm ۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۰۱۱ \pm ۰/۰۰۰۷ ^d
شوری ۱۰۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	۱۲/۸۶ \pm ۰/۴۵۰ ^c	۰/۲۰۲ \pm ۰/۰۳۳ ^b	۰/۰۱۲ \pm ۰/۰۰۳ ^c	۴/۵۲۰ \pm ۰/۵۵۲ ^a	۰/۰۰۷ \pm ۰/۰۰۳ ^b	۰/۰۰۳۹ \pm ۰/۰۰۱۱ ^a
شوری ۱۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ میلی گرم	۱۲/۷۳ \pm ۱/۸۶۹ ^c	۰/۲۱۱ \pm ۰/۰۵۰ ^a	۰/۰۱۴ \pm ۰/۰۰۳ ^a	۲/۷۰۳ \pm ۰/۵۲۹ ^c	۰/۰۰۸ \pm ۰/۰۰۳ ^a	۰/۰۰۱۷ \pm ۰/۰۰۰۳ ^b
شوری ۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	۱۰/۶۶ \pm ۱/۲۰۹ ^e	۰/۱۴۷ \pm ۰/۰۱۶ ^f	۰/۰۰۸ \pm ۰/۰۰۱ ^e	۴/۰۷۶ \pm ۰/۵۱۹ ^b	۰/۰۰۵ \pm ۰/۰۰۱ ^e	۰/۰۰۱۴ \pm ۰/۰۰۰۴ ^d
شوری ۱۰۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	۱۱/۷۹ \pm ۱/۳۷۲ ^d	۰/۱۶۱ \pm ۰/۰۱۸ ^e	۰/۰۱۷ \pm ۰/۰۰۲ ^d	۲/۷۳۰ \pm ۰/۷۱۰ ^e	۰/۰۰۲ \pm ۰/۰۰۱ ^e	۰/۰۰۱۳ \pm ۰/۰۰۰۳ ^e
شوری ۱۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۱۰ میلی گرم	۹/۵۶۶ \pm ۱/۵۶۶ ^f	۰/۱۹۱ \pm ۰/۰۴۵ ^c	۰/۰۱۲ \pm ۰/۰۰۴ ^c	۴/۳۶۰ \pm ۰/۶۷۴ ^a	۰/۰۰۶ \pm ۰/۰۰۱ ^d	۰/۰۰۰۳ \pm ۰/۰۰۰۱ ^e

اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی محتوای نسبی آب برگ گیاه کلزا: براساس جدول تجزیه واریانس اثر شوری و کیتوزان و تیمارهای توام بر محتوای نسبی آب برگ گیاهان در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). با افزایش غلظت شوری محتوای نسبی آب برگ کاهش یافت. در بررسی اثر متقابل شوری و کیتوزان با توجه به شکل ۳ می‌توان گفت که کیتوزان توانسته تا حدی کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر شوری را افزایش دهد.

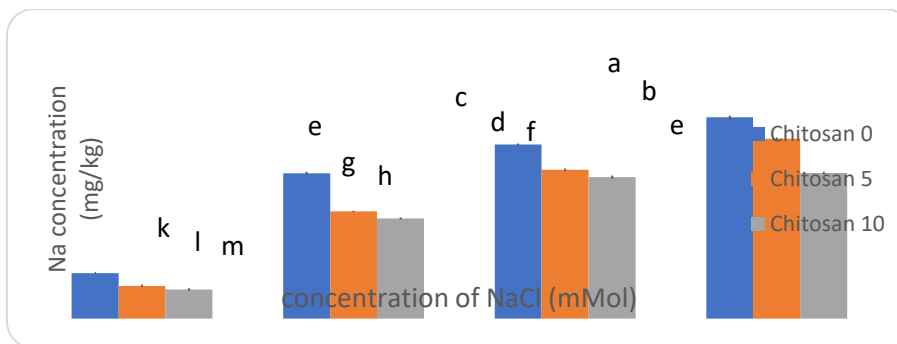
اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی محتوای سدیم و پتاسیم: مقایسه نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد اثر تنش شوری، کیتوزان و تیمار توام بر میزان سدیم و پتاسیم در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود ($P < 0.01$). در تنش شوری بیشترین مقدار سدیم در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. استفاده از کیتوزان باعث کاهش میزان سدیم بخش هوایی نسبت به گیاهان تحت تنش شوری همان گروه شده است (شکل ۴).



شکل ۲- مقایسه برهمکنش غلظت های شوری و کیتوزان بر روی نشت الکترولیتها گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد. میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



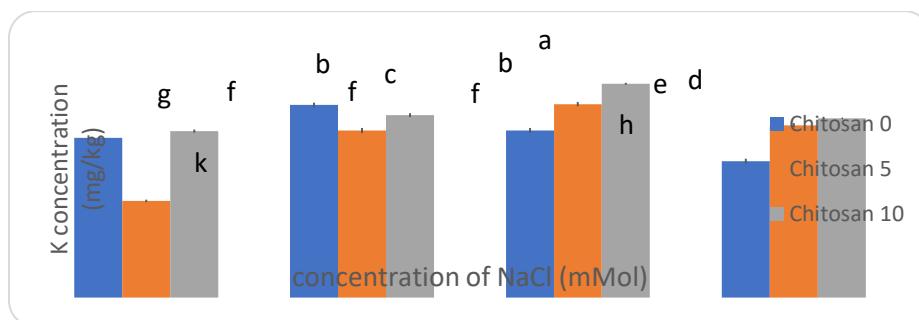
شکل ۳- مقایسه برهمکنش غلظت های شوری و کیتوزان بر روی محتوای نسبی آب در برگ گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد. میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.



شکل ۴- مقایسه برهمکنش غلظت های شوری و کیتوزان بر روی محتوای سدیم در بخش هوایی گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد. میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

گیاه کلزا شده است (شکل ۵). استفاده همزمان از کیتوزان و شوری بر روی میزان پتاسیم در گیاه کلزا در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان ۵ و ۱۰ میلی گرم در مقایسه با شوری در همان غلظت‌ها افزایش داشت. در غلظت ۵۰ میلی مولار همراه با کیتوزان در مقایسه با شوری همان غلظت کاهش داشت.

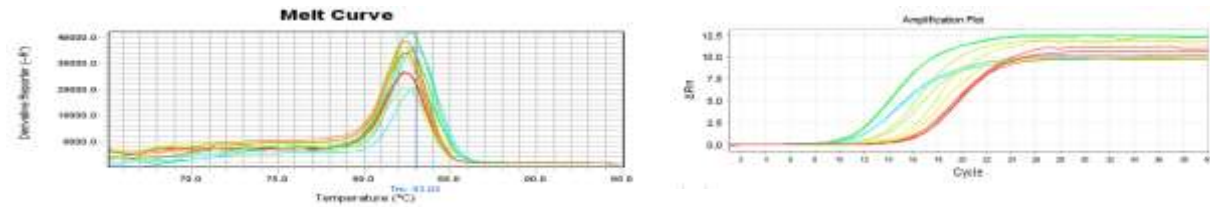
میزان پتاسیم در بخش هوایی کلزا در غلظت های ۵۰ میلی مولار در مقایسه با شاهد افزایش داشته است ولی در غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار کاهش نشان داد (شکل ۵). نشان داد که استفاده از کیتوزان در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر اثر کاهشی داشته در حالی که غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش میزان پتاسیم در بخش هوایی



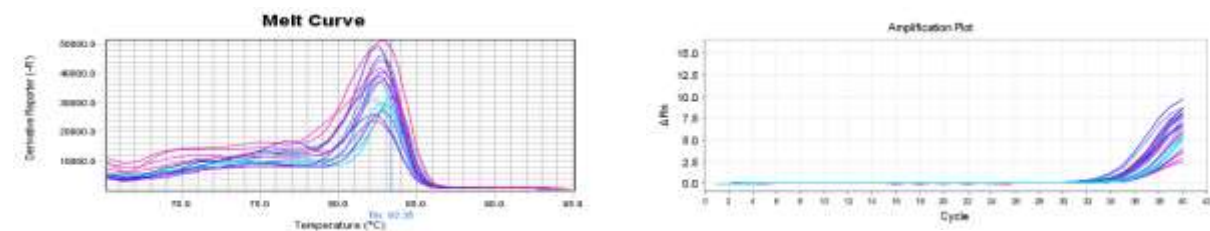
شکل ۵- مقایسه برهمکنش غلظت های شوری و کیتوزان بر روی محتوای پتاسیم در بخش هوایی گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می باشد. میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

متفاوت نشانگر تغییر بیان ژن‌ها تحت تیمارهای مختلف شوری و کیتوزان است (اشکال ۶، ۷ و ۸).

اثر تنش شوری و کیتوزان بر روی بیان ژن *PIP* بررسی منحنی‌های تکثیر ژن مورد مطالعه نشان داد که تکثیر به خوبی صورت گرفته و وجود سیکل آستانه یا *CT* های



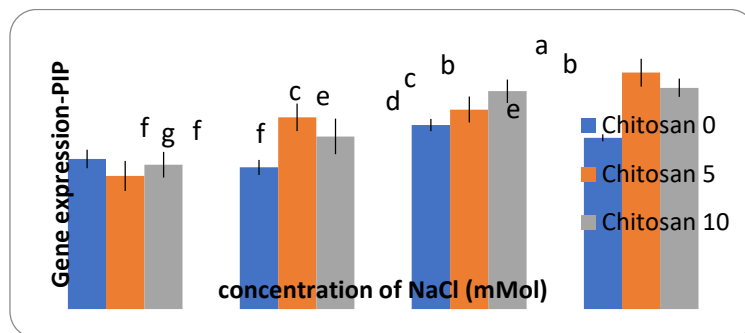
شکل ۶- منحنی ذوب و تکثیر ژن rRNA (کنترل داخلی)



شکل ۷- منحنی ذوب و تکثیر ژن Plasma membrane intrinsic proteins

۱۵۰ میلی‌مولار افزایش یافته است. در تیمارهای توام بالاترین میزان بیان مربوط به تیمار ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار شوری همراه با ۵ میلی‌گرم درلیتر کیتوزان بود. در حالی که در همین غلظت کیتوزان با ۱۵۰ میلی‌مولار شوری بیان ژن کمتر از سایر گروه‌ها بود.

براساس جدول ۲ تجزیه واریانس داده‌ها تحت تأثیر شوری و تیمار توام شوری و کیتوزان بر روی بیان ژن *PIP* در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده ($P < 0.05$) ولی تأثیر کیتوزان معنی‌دار نبود. باتوجه به شکل (۸) بیان ژن در شوری ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد کاهش ولی در شوری ۱۰۰ و



شکل ۸- مقایسه برهمکنش غلظت‌های شوری و کیتوزان بر روی بیان ژن *PIP* گیاه کلزا در مقایسه با شاهد. داده میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار می‌باشد. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند.

زدن به غشا لیپیدی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک را دارد (۱۴). براساس نتایج Shahid و همکاران (۲۰۱۱) با افزایش تنش شوری میزان درصد جوانه زنی در گیاه نخود فرنگی کاهش یافته که علت، تأثیر مستقیم شوری بر روی رشد

بحث و نتیجه‌گیری

تنش‌های زنده و غیرزنده از عوامل مهم کاهش تولید محصولات زراعی محسوب می‌شوند (۲۶). تنش شوری منجر به تجمع گونه اکسیژن فعال شده که توانایی صدمه

کربن بعنوان منبع اصلی انرژی برای رشد و نمو، کاهش یافته و در نتیجه رشد کاهش می‌یابد (۳۴). ریشه‌ها مستقیماً در تماس با محیط رشد حاوی نمکهای سمی هستند که رشد بلند مدت ریشه را متوقف می‌کند. در نتیجه بیوماس را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از آنجا که افزایش در طول ریشه افزایش جذب آب و مواد معدنی را باعث می‌شود، بنظر می‌رسد در شرایط تنش شوری گیاهان تیمار شده با کیتوزان با افزایش طول ریشه توانسته از اثرات مخرب شوری بر رشد و گسترش ریشه جلوگیری کنند (۸). کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم‌های متابولیسم نیتروژن و بهبود انتقال نیتروژن در برگها باعث افزایش رشد در گیاهان می‌شود (۳۲). محلول پاشی با کیتوزان بر رشد رویشی، افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، جوانه زنی در گیاه ذرت و لوبیا شده است. اثر تحریک کنندگی کیتوزان بر رشد گیاه به دلیل افزایش جذب آب و عناصر ضروری و کاهش انباشت رادیکالهای آزاد اکسیژن از طریق افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. افزایش عملکرد تحت تأثیر کیتوزان به دلیل تأثیر آن بر تحریک فرایندهای فیزیولوژیکی، بهبود رشد رویشی و افزایش جذب دی‌اکسید کربن می‌باشد (۱). تنش شوری به دلیل آسیب به دیواره سلولی، کاهش پتانسیل اسمزی و تعادل آب باعث تغییر در محتوای نسبی آب سلول می‌شود. در نتیجه غلظت اتیلن افزایش یافته و رشد ریشه‌ها کاهش می‌یابد. کیتوزان با کاهش رادیکالهای آزاد موجود در محیط، باعث حفاظت سلول در شرایط تنش، افزایش پایداری و بهبود نفوذپذیری انتخابی غشاء پلاسمایی می‌شود (۱۰). محتوای نسبی آب بالا، توانایی گیاهان را برای تنظیم اسمزی و حفظ رشد نشان می‌دهد. بنظر می‌رسد کیتوزان با افزایش محتوای نسبی آب توانسته رشد گیاه را افزایش دهد زیرا افزایش محتوای نسبی آب برگ شرایط مساعد برای فتوسنتز و تقسیم و توسعه برگ را فراهم کرده که باعث تولید بیشتر مواد فتوسنتزی و افزایش رشد گیاه می‌شود (۵۰). Shams Peykani در سال ۲۰۱۸ گزارش داد

جنین است (۴۰) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. Ansari و همکاران (۲۰۱۹) علت کاهش جوانه‌زنی بذر یونجه تحت تنش شوری را کاهش پتانسیل اسمزی بیان کرد و از سوی دیگر اختلال در جذب برخی از عناصر که باعث کاهش سرعت و درصد جوانه زنی می‌شود (۱۲). کاهش جوانه زنی ناشی از عدم جذب آب در شرایط شوری است که به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی محیط اتفاق می‌افتد. اثرات سوء غلظتهای بالای شوری بر جوانه زنی مربوط به سمیت یونها سدیم و کلر یا هر دو و انباشته شدن همزمان کاتیونها و آنیونها در سلول است. تنش شوری رشد ساقه را بیش از ریشه مهار می‌کند. اثر شوری بر بخش هوایی ناشی از اثر بازدارندگی نمک بر تقسیم سلولی در مریستم است. شوری در گیاهان مختلف بر طول بخش هوایی و ریشه، تعداد برگها، و نسبت بخش هوایی به ریشه تأثیر می‌گذارد (۴۸). اثر تحریک کنندگی کیتوزان بر جوانه زنی و رشد گیاهچه‌های گندم، ذرت و بادام زمینی و رشد ریشه‌ها، ساقه برگهای گیاهان مختلف از جمله ژبررا گزارش شده است (۶). برخی از محققین بیان کردند که کیتوزان ممکن است از طریق تأثیر بر تولید هورمون‌های گیاهی مانند اکسین و جیبرلین بر روی رشد گیاهان تأثیر گذارد (۷). کیتوزان با القاء مسیر سیگنالینگ مربوط به بیوستز اکسین از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان باعث رشد و نمو گیاهان می‌شود (۶). تنش شوری باعث استرس اکسیداتیو و تولید رادیکالهای آزاد می‌شود و کیتوزان با تحریک تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان با اثرات تنش مقابله کرده و باعث افزایش بیوماس گیاه می‌شود (۳۶). کیتوزان با خنثی کردن رادیکالهای آزاد از DNA سلول محافظت می‌کند. این ویژگی ممکن است مربوط به ساختار خاص کیتوزان باشد بطوری که گروههای آمین و هیدروکسیل موجود در کیتوزان با رادیکالهای آزاد وارد واکنش شوند (۶). ممانعت از رشد تحت شرایط شوری ممکن است به علت کاهش دسترسی گیاه به آب یا سمیت کلرید سدیم باشد. تحت شرایط شوری جذب دی‌اکسید

افزایش یافته است (۲۰). به نظر می‌رسد که به خاطر رقابت سدیم و پتاسیم در تنش شوری، میزان جذب پتاسیم کاهش یافته است. کانال‌های یونی واقع در غشاء سلول یون‌های پتاسیم را وارد می‌کنند که در هنگام تنش شوری به دلیل تشابه شعاع یونی پتاسیم و سدیم، سدیم را انتقال می‌دهند. به همین دلیل میزان سدیم افزایش و میزان پتاسیم کاهش می‌یابد (۱۵). مهمترین استراتژی در گیاهان تحت تنش شوری کده بندی سدیم در ریشه و عدم ارسال آن به بخش‌های هوایی است که استفاده از کیتوزان به آن کمک می‌کند. رشد گیاه در محیط شور باعث بیان ژن *AsHKT1* در برگها و ریشه شده و کیتوزان بیان این ژن در ریشه را افزایش داده، در نتیجه از انتقال سدیم به بخش‌های هوایی جلوگیری می‌کند. تیمار با کیتوزان باعث فعال شدن مسیر SOS در ریشه تحت تنش شوری می‌شود. مهمترین عملکرد *AtSOS1* خروج سدیم از سیتوزول به ریزوسفر تحت تنش شوری است. *AtSOS1* انتقال در مسیر بلند سدیم از ریشه به برگ تحت شرایط تنش شوری و پتاسیم کم را تنظیم می‌کند. (۴۵). مسیر SOS فعال شده توسط کیتوزان می‌تواند باعث خروج سدیم شود زمانی که میزان پتاسیم موجود در محلول غذایی هوگلدن کافی بوده و گیاه تحت تنش شوری باشد. ارسال سدیم به واکنشها یک مکانیسم کلیدی جهت کاهش اثرات سمی یون در سیتوپلاسم است. کده بندی باعث تنظیم اسمزی جهت تأمین آب در شرایط تنش شوری می‌شود. کیتوزان باعث افزایش ظرفیت کده بندی سدیم در سلولها می‌شود. کیتوزان در تنظیم بالا دست ژنهای *AsATPa2* و *AsATPa6* ریشه و برگها نقش داشته و باعث افزایش نیروی محرکه پروتون تحت تنش شوری می‌شود (۲۱). نتایج Dzung و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که کیتوزان طی تنش شوری میزان پتاسیم را در نخود افزایش داده است (۱۹). که با نتایج ما هم سویی دارد. به نظر می‌رسد کیتوزان تحت تنش شوری با کاهش غلظت سدیم و افزایش پتاسیم باعث پاسخ مناسبی برای مقابله با شوری

که شوری محتوای نسبی آب در برگ گیاه کلزا را نسبت به شاهد کاهش داد (۳۹). علت کاهش محتوای نسبی آب این است که شوری از جذب آب جلوگیری کرده و تنش خشکی ایجاد می‌کند به این ترتیب سبب کاهش پتانسیل آب برگ و جذب آب از ریشه می‌شود. کیتوزان باعث بهبود نسبی آب می‌شود که احتمالاً به دلیل تنظیم تعادل بین تأمین آب و تعرق برگ در گروه تیمار توام است (۸). افزایش نشت الکترولیت ناشی از آسیب و کاهش پایداری غشاها و احتمالاً نتیجه حاصل تنش اکسیداتیو شوری است (۲۴). پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء در تنش شوری باعث آسیب و نشت یونی از آن می‌شود. کاهش پایداری غشاء به میزان پراکسیداسیون لیپیدها که توسط گونه های اکسیژن فعال اتفاق می‌افتد، بستگی دارد (۴۸). تنش یکسری تغییرات در فسفولیپیدهای غشاء ایجاد می‌کند که اسید چربهای غیراشباع افزایش می‌یابد. در تنشهای شدید بعضی از قسمتهای فسفولیپیدهای دولایه غشاء حالت شش وجهی پیدا کرده و ساختار غشاء منغذار شده و نشت مواد رخ می‌دهد. در شرایط تنش، اختلال در فعالیتهای بیولوژیک غشاء سلولی باعث کاهش سیالیت، غیرفعال سازی یا کاهش سرعت پمپ شدن یونها در غشاء شده و بر میزان نشت یونی افزوده می‌شود. حفظ تمامیت غشاء سلولی در طی تنش نشانه ای هنگام بکارگیری کیتوزان از وجود مکانیسم های کنترلی در تحمل به پسابیدگی است (۲۳). میزان بالای نشت الکترولیت همیشه علامتی برای آسیب غشاء پلاسمایی نیست و گاهی مربوط به بالا بودن میزان پتاسیم است. Demidchik و همکاران در ۲۰۱۴ بیان کردند که نشت الکترولیت با خروج پتاسیم از سلول در ارتباط است (۱۸). در مطالعه حاضر با افزایش شوری تا سطح ۱۵۰ میلی مولار افزایش در میزان سدیم و کاهش پتاسیم در مقایسه با شاهد مشاهده شد. نتایج Ferreira و همکاران در ۲۰۲۰ نشان داد که شوری غلظت عناصر غذایی از جمله پتاسیم، و نسبت پتاسیم به سدیم را به میزان قابل توجهی کاهش داده، اما سدیم در اندام هوایی

آکوپورینها به وفور در ریشه یافت می‌شوند (۴۶). گزارشات نشان می‌دهد که ایزوفرمهای *PIP1* در انتقال آب نقش دارند. بیان همزمان ایزوفرمهای *PIP2* (*Zm*) با *PIP1* نشان داده که انتقال آب از طریق هترومیزاسیون دو ایزوفرم در مقایسه با فعالیت *ZmPIP2* به تنهایی در تخمک‌های *Xenopus* بالاتر است (۲۵). بیان *PIP* ها وابسته به مرحله رشد ریشه بوده و با افزایش رشد و بلوغ گیاه دو ژن، *PIP1* و *PIP2*، بیشتر بیان می‌شوند. بیان ژنها در بخش‌های خارجی ریشه بیشتر است (۱۷). پروتئینهای سنتز شده جز پروتئینهای غشایی بوده و در بخشهایی که انتقال آب در آنها بیشتر است (آندودرم) به تعداد زیادی شناسایی شده‌اند. بیان گذرای ژن‌های *ZmPIP1;1* و *ZmPIP1;5* و *ZmPIP2;4* ذرت، تحت تأثیر تنش در بخش‌های بیرونی ریشه افزایش یافته ولی در سایر بخشها تغییری ندارد (۹). در پژوهش حاضر شوری باعث افزایش بیان ژن *PIP* و کیتوزان اثر کاهشی بر بیان آن داشت. بیان ژن در ریشه گیاه آراییدوپسیس تحت تنش شوری دارای عملکرد متفاوت است بطوری که مهار بیان این ژن جهت جلوگیری از کاهش آب در ریشه صورت گرفته و افزایش بیان به دلیل آماس سلول‌ها است (۳۵). ایوبی و رحمانی (۱۳۹۵) بیان ژن‌های خانواده *ZmPIP* را تحت تنش شوری و خشکی در ذرت مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بیان ژن *ZmPIP* تحت تأثیر کلرید کلسیم نسبت به شاهد افزایش یافت. در تنش خشکی پس از ۴ روز افزایش داشته در حالی که با افزایش تعداد روز (۸ روز) بیان کاهش یافته است (۱). میزان بیان ژن *ZmPIP* در ذرت (۲۹) تحت تنش شوری افزایش یافته که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. از گزارش محققین میتوان استنباط کرد که کیتوزان از طریق بهبود وضعیت ریشه‌های کارآمد و افزایش بیان ژن *PIP*، باعث افزایش جذب آب شده و همچنین با کاهش تعرق در گیاه، باعث حفظ محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش شده است (۱۱).

بوده و از سمیت یونی ناشی از شوری کاسته است. در شرایط شوری تجمع یونهای غیرآلی در واکنش نسبت به ترکیبات آلی نیاز به انرژی کمتری دارد. تجمع یونها عامل برای کاهش پتانسیل آب سلول به منظور صرفه جویی در مصرف انرژی است. در تنش شوری سدیم یک اسمولیت غیرآلی مناسب جهت کاهش پتانسیل آب سلول است. با این حال، حفظ نسبت پتاسیم به سدیم در بافتها برای تنظیم اسمزی سلول، نگهداری تورژانس سلولی، باز و بسته شدن روزنه‌ها، فعالیت آنزیمها، سنتز پروتئین، متابولیسم و فتوسنتز ضروری است. در تنش شوری با تجمع سدیم در بافتها پتاسیم به خارج نشت می‌یابد (۳۸). تجمع سطوح بالای یون سدیم در بافتهای گیاهی تحت شرایط شوری باعث آسیب به متابولیسم سیتوپلاسم و اندامکها می‌شود. باتوجه به رقابت سدیم و پتاسیم در جذب، وجود سدیم اضافی در محیط عدم تعادل سدیم و پتاسیم سلول به دنبال داشته و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم را باعث می‌شود که در این صورت گیاه دچار کمبود پتاسیم خواهد شد. پتاسیم یک عنصر ضروری پرمصرف برای گیاه است که در تعادل فشار اسمزی، تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها، فتوسنتز فعالیت آنزیمها نقش دارد. کیتوزان با تنظیم تعادل تغذیه ای و کاهش سمیت یونی، رشد گیاه را افزایش می‌دهد. پلی ساکاریدها با حفظ نسبت پتاسیم به سدیم از طریق تنظیم ژنهای چند ناقل Na^+/K^+ هماهنگ کردن جریان و کده بندی سدیم باعث افزایش تحمل گندم به شوری می‌شود (۵۰) کیتوزان مسیره‌های فوق حساس را فعال کرده و بیان ژنهای *AsHKT1* همچنین ژنهای مربوط به ناقل سدیم و پتاسیم را در شرایط شوری افزایش داده و از انتقال سدیم به بافتهای فتوسنتزی جلوگیری می‌کند (۲۱). از طرفی انتقال آب نیز تحت تأثیر این تنش قرار می‌گیرد. آکوپورینها ناقلهایی هستند که حرکت آب در بین سلولها را تنظیم می‌کنند بطوری که بخش قابل توجهی از انتقال آب ریشه تحت کنترل متابولیسم آنها بوده و در صورت فعال بودن، می‌توانند فشار اسمزی سلول را تنظیم نمایند (۱۷).

نتیجه‌گیری کلی

تحمل گیاه به تنش شد. بنابراین می‌توان از کیتوزان به عنوان یک پلیمر زیستی بی‌خطر در افزایش مقاومت به تنش شوری استفاده نمود.

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق، در مناطق تحت تنش شوری با کاربرد کیتوزان می‌توان از طریق حفظ محتوای نسبی آب برگ، افزایش پتاسیم و رشد رویشی بخش هوایی و ریشه را بهبود بخشید و باعث افزایش

منابع

- ۱- ایوبی، ا.، و رحمانی، ف.، ۱۳۹۵. مطالعه تغییرات میزان بیان دو ژنی ZmPIP تحت تنشهای محیطی غیرزنده در برگ ذرت، تنشهای محیطی در علوم زراعی، ۹(۴)، صفحات ۴۱۷-۴۲۲.
- ۲- امیری، ا.، سیروس مهر، ع.، و اسمعیل زاده بهابادی، ص.، ۱۳۹۴. اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و کیتوزان بر عملکرد گیاه گلرنگ در شرایط تنش خشکی، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸(۴)، صفحات ۷۱۲-۷۲۵.
- ۳- خواجه پور، م.، ۱۳۸۳. تولید نباتات صنعتی، انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.
- ۴- موسی پور یحیی آبادی، ح.، اصغری پور، م.، و بصیری، م.، ۱۳۹۵. نقش کیتوزان در بهبود مقاومت به شوری از طریق تأثیر بر tolerance in maize plants. *Acta Scientiarum Agronomy*, 42, 27 p. doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.42463.
- 12- Al-Whaibi, M.H., Siddiqui, M.H., and Basalah, M.O., 2012. Salicylic acid and calcium induced protection of wheat against salinity, *Protoplasma*, 249, PP: 769-778. doi: 10.1007/s00709-011-0322-1.
- 13- Ansari, M., Shekari, F., Mohammadi, M.H., Juhos, K., Végvári, G., and Biró, B., 2019. Salt-tolerant plant growth-promoting bacteria enhanced salinity tolerance of salt-tolerant alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars at high salinity, *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(12), 195p. doi.org/10.1007/s11738-019-2988-5.
- 14- Ansari, S.H., Ansari, M.I., Fujita, M., and Hasanuzzaman, M., 2021. Abiotic stress and reactive oxygen species: generation, signaling, and defense mechanisms. *Antioxidants*, 10: 277. doi.org/10.3390/antiox10020277.
- 15- Assaha, D.V.M., Ueda, A., Saneoka, H., Al Yahyai, R., and Yaish, M.W., 2017. The Role of Na⁺ and K⁺ transporters in salt stress adaptation in glycophytes, *Frontiers in Physiology*, 8, 500 p. doi.org/10.3389/fphys.2017.00509.
- 16- Channuntapipat, C., Wirthensohn, M., Ramesh, S.A., Batlle, I., Arús, P., Sedgley, M., and
- ۵- مقیمی مقدم، س. ن.، کلارستانی، ک.، و صدر آبادی، ر.، ۱۳۹۳. بررسی اثرات توسعه ریشه در ارتباط با تحمل به خشکی در چهار رقم گندم، فصلنامه ی علوم به زراعی گیاهی، ۴(۲)، صفحات ۹-۱۳.
- ۶- مهدوی، ب.، مدرس ثانوی، س.ع.م.، آقا علیخانی، م.، و شریفی، م.، ۱۳۹۲. اثر غلظتهای مختلف کیتوزان بر جوانه زنی و آنزیمهای آنتی اکسیدانت، مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۶(۳)، صفحات ۳۵۲-۳۶۵.
- 7- Acemi, A., 2020. Chitosan versus plant growth regulators: a comparative analysis of their effects on in vitro development of *Serapias vomeracea* (Burm.f.) Briq. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 141, PP: 327- 338, doi.org/10.1007/s11240-020-01789-3.
- 8- Acosta-Motos, J.R., Ortuno, M.F., Bernal-Vicente, A.B., Diaz-Vivancos, P., and Sanchez-Blanco, M.J., 2017. Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7, 18p. doi:10.3390/agronomy7010018.
- 9- Afzal, Z., Howton, T.C., Sun, Y., and Mukhtar, M.S., 2016. The roles of aquaporins in plant stress responses. *Journal of developmental biology*, 4(1), 9 p. doi.org/10.3390/jdb4010009.
- 10- ALKahtani, M.D.F., Attia, K.A., Hafez, Y.M., Khan, N., Eid, A.M., Ali, M.A.M., and Abdelaal, K.A.A., 2020. Chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant defense system can display salt tolerance of salt acclimated sweet pepper plants treated with chitosan and plant growth promoting rhizobacteria. *Agronomy*, 10, 1180 p. doi:10.3390/agronomy10081180.
- 11- Almenida, L.G., Magalhaes, P., Karam, D., Da Silva, E., and Alvarenga, A.A., 2020. Chitosan application in the induction of water deficit

- Collins, G., 2003. Identification of incompatibility genotypes in almond (*Prunus dulcis* Mill.) using specific primers based on the introns of the S-alleles. *Plant Breeding*. 122(2):164-8. doi.org/10.1046/j.1439-0523.2003.00842.X.
- 17- Chumont, F., and Tyerman, S.D., 2014. Aquaporins: Highly regulated channels controlling plant water relations. *Plant Physiology*, 164, PP: 1600-1618. doi.org/10.1104/1.113.233791.
- 18- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S.S., Pozhvanov, G.A., Soko-lik, A., and Yurin, V., 2014. Stress-induced electrolyte leakage: The role of K⁺ permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 65, PP: 1259–1270. [doi: 10.1093/jxb/eru004](https://doi.org/10.1093/jxb/eru004).
- 19- Dzung, N.A., Khanh, V.T., and Dzung, T.T., 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. *Carbohydrate Polymers*, 84(2), PP:751-5, [doi: 10.1016/j.carbpol.2010.07.066](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.07.066).
- 20- Ferreira, J.F.S., Barros, J., Liu, X., and Sandhu, D., 2020. Spinach plants favor the absorption of K⁺ over Na⁺ regardless of salinity, and may benefit from Na⁺ when K⁺ is deficient in the soil. *Plants*, 9, 507 p. [doi:10.3390/plants9040507](https://doi.org/10.3390/plants9040507).
- 21- Geng, W., Li, Z., Hassan, M., and Peng, Y., 2020. Chitosan regulates metabolic balance, polyamine accumulation, and Na⁺ transport contributing to salt tolerance in *Creeping bentgrass*, *BMC Plant Biology*, 20, 506 p. doi.org/10.1186/s12870-020-02720-w.
- 22- Gupta, B., and Huang, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization, *International Journal of Genomics*, Article ID 701596 | doi.org/10.1155/2014/701596.
- 23- He, M., and Ding, N.Z., 2020. Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response, *Front Plant Science*, 11, 562785 p. [doi: 10.3389/fpls.2020.562785](https://doi.org/10.3389/fpls.2020.562785).
- 24- [Hnilickova, H., Hnilicka, F., Orsak, M., and Heinak, V., 2019. Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na⁺ and K⁺ content in selected plant species. *Plant, Soil and Environment*, 65 \(2\), PP: 90–96. doi.org/10.17221/620/2018-PSE](https://doi.org/10.17221/620/2018-PSE).
- 25- Horie, T., Kaneko, T., Sugimoto, G., Sasano, S.H., Panda, S., and Shibasaka, M., 2011. Mechanisms of water transport mediated by PIP aquaporins and their regulation via phosphorylation events under salinity stress in barley roots. *Plant and Cell Physiology* 52(4), PP:663-75. [doi: 10.1093/pcp/pcr027](https://doi.org/10.1093/pcp/pcr027).
- 26- Huang, D., Wu, W., Abrams, S.R., and Cutler, A.J., 2008. The relationship of drought-related gene expression in *Arabidopsis thaliana* to hormonal and environmental factors. *Journal of experimental Botany*, 59(11), PP: 2991-3007, [doi: 10.1093/jxb/ern155](https://doi.org/10.1093/jxb/ern155)
- 27- Isayenkov, S.V., and Maathuis, F.J.M., 2019. Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain. *Frontiers in Plant Science*, 10, 80 p. doi.org/10.3389/fpls.2019.00080.
- 28- Kamran, M., Parveen, A., Ahmar, S., Malik, Z., and Hussain, S., 2020. An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through Selenium supplementation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 148 p. [doi:10.3390/ijms21010148](https://doi.org/10.3390/ijms21010148).
- 29- Marulanda, A., Azcón, R., Chaumont, F., Ruiz-Lozano, J.M., and Aroca, R., 2010. Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions, *Planta*, 232(2), PP: 533 - 543, [doi: 10.1007/s00425-010-1196-8](https://doi.org/10.1007/s00425-010-1196-8).
- 30- Mahdavi, B., 2013. Seed germination and growth responses of Isabgol (*Plantago ovata Forsk*) to chitosan and salinity, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(10), 1084 p.
- 31- Manickavelu, A., Kambara, K., Mishina, K., and Koba, T., 2007. An efficient method for purifying high quality RNA from wheat pistils. *National Library of Medicine*, 54(2), PP: 254-258.
- 32- Mervat, S.H., Sadak, I., and Talaat, M., 2021. Attenuation of negative effects of saline stress in wheat plant by chitosan and calcium carbonate. *Bulletin of the National Research Centre*, 45, 136 p. doi.org/10.1186/s42269-021-00596-w.
- 33- Mohammadi, G.R., and Amiri, F., 2010. The effect of priming on seed performance of canola (*Brassica napus* L.) under drought stress, *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(2), PP: 202-207.
- 34- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *The Annual Review of Plant Biology*, 59, PP: 651–81. doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.

- 35- Nkulu, N.K., Imran, Q.M., Lee, I., and Yun, B., 2020. Salinity stress-mediated suppression of expression of salt overly sensitive signaling pathway genes suggests negative regulation by AtbZIP62 transcription factor in *Arabidopsis thaliana*. International journal of Molecular, 21, 1726 p, doi:10.3390/ijms21051726 Sciences.
- 36- Patel, D., and Saraf, M., 2013. Influence of soil ameliorants and microfora on induction of antioxidant enzymes and growth promotion of *Jatropha curcas* L., under saline condition. European Journal Soil Biology, 55, PP: 47-54. doi.org/10.1016/j.ejsob.2012.12.004
- 37- Sairam, R.K., and Srivastava, G.C., 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science, 186(1), PP: 63-70. doi.org/10.1046/j.1439-037x.2001.00461.X
- 38- Shabala, S., Demidchik, V., Shabala, L., Cuin, T.A., Smith, S.J., Miller, A.J., Davies, J.M., and Newman, I.A., 2006. Extracellular Ca^{2+} ameliorates NaCl induced K^{+} loss from arabidopsis root and leaf cells by controlling plasma membrane K^{+} permeable channels, Plant Physiology 141, PP: 1653-1665. doi: 10.1104/pp.106.082388.
- 39- Shams Peykani, L., and Farzami Sepehr, M., 2018. Effect of chitosan on antioxidant enzyme activity, proline, and malondialdehyde content in *Triticum aestivum* L. and *Zea maize* L. under salt stress condition'. Iranian Journal of Plant Physiology, 9(1), PP: 2661- 2670. doi: 10.22034/ijpp.2018.545906.
- 40- Shahid, M.A., Pervez, M.A., Balal, R.M., Mattson, N.S., Rashid, A., Ahmad, R., Ayyub, C.M., and Abbas, T., 2011. Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum*'L.), Australian Journal of Crop Science, 5(5), 500 p.
- 41- Shahid, M.A., Sarkhosh, A., Khan, N., Balal, R.M., Ali, S.H., Rossi, L., and Gomez, C., 2020. Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development, Agronomy, 10(7), 938 p. doi.org/10.3390/agronomy10070938.
- 42- Sharif, D., Mamdouh, Z., Elkafafi, S.H., and Zedan, A., 2017. Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under salt stress. International Journal of Plant Production 8(5), doi: [10.21608/jpp.2017.40468](https://doi.org/10.21608/jpp.2017.40468).
- 43- Tian, Y., Zhou, D., Yu, J., Li, G., and Lou, Y., 2014. Responses of seed germination, seedling growth, and seed yield traits to seed pretreatment in maize (*Zea mays* L.), The Scientific World Journal, 834630, PP: 1-8. doi.org/10.1155/2014/834630.
- 44- Ullah, N., Basit, A., Ahmad, I., Ullah, I., Shah, S.T., Mohamed, H., Javed, S.H., 2020. Mitigation the adverse effect of salinity stress on the performance of the tomato crop by exogenous application of chitosan. Bulletin of the National Research Centre, 44,181 p. doi.org/10.1186/s42269-020-00435-4.
- 45- Wang, Q., Guan, C., and Wang, S.M., 2014. Coordination of *AtHKT1* and *AtSOS1* facilitates Na^{+} and K^{+} homeostasis in *Arabidopsis thaliana* under salt stress. Journal of Plant Biology, 57(5), PP: 282-90. Doi: 10.1007/s12374-014-0222-y.
- 46- Wang, G., Wang, Q., Lin, X., Ng, T.B., Yan, R., Lin, J., and Ye, X., 2016. A novel cold-adapted and highly salt-tolerant esterase from Alkali bacterium sp. SL3 from the sediment of a soda lake. Scientific reports, 6, 19494 p. doi: 10.1038/srep19494.
- 47- Weatherley, P.E., 1973. Studies in the water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. New Phytologist, 49, PP: 81-87. doi.org/10.1111/j.1469-8137.1950.tb05146.x
- 48- Zayed, M.M., Elkafafi, S.H., Zedan, A.M.G., and Dawoud, S.H., 2017. Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus Vulgaris* under Salt Stress. Journal of. Plant Production, 8 (5), PP: 577 -585.
- 49- Zhang, X., Lei, L., Lai, J., Zhao, H., and Song, W., 2018. Effects of drought stress and water recovery on physiological responses and gene expression in maize seedlings. BMC Plant Biology, 18, 68 p. doi.org/10.1186/s12870-018-1281-x.
- 50- Zhang, G., Wang, Y., Wu, K., Zhang, Q., Feng, Y., Miao, Y., and Yan, Z., 2012. Exogenous applications of chitosan alleviate salinity stress in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). Horticulturae, 7, 342 p, doi.org/10.3390/horticulturae7100342.
- 51- Zhu, C., Schraut, D., Hartung, W., and Schäffner, A.R., 2005. Differential responses of maize *MIP* genes to salt stress and ABA, Journal of Experimental Botany, 56(421), PP: 2971-2981. doi.org/10.1093/jxb/eri294.

The effect of chitosan on the expression of *PIP* gene of rapeseed (*Brassica napus* L.) Under salinity stress

Mokhtari H.¹, Ranjbar M.¹ and Ahadi A.M.²

¹ Dept. of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, I.R. of Iran

² Dept. of Genetics, Faculty of Science, University of Shahr e kord, Shahr e kord, I.R. of Iran

Abstract

Due to the increase in solutes in agricultural soils, crops are under stress. On the other hand, rapeseed is an important plant in the oil industry. Therefore, it seems necessary to use materials that can help the plant to tolerate environments with high solutes. The aim of this study was to investigate the effect of chitosan on *PIP* gene expression, growth parameters and physiological characteristics of rapeseed under salinity stress which was performed in a factorial experiment based on a completely randomized design with 3 replications. For this purpose, rapeseed seedlings was treated with different concentrations of salinity (0, 50, 100, 150 mM) and chitosan (0, 5, 10 mg/L). *PIP* gene expression was evaluated using Real Time PCR. Germination percentage and speed, length, fresh and dry weight of root and shoot, relative leaf water content, electrolyte leakage and sodium and potassium contents was determined. In salinity stress, treatment with chitosan increased the expression of *PIP* gene so that the highest gene expression was at 50 and 100 mM salinity with 5 mg/l chitosan. The effect of salinity treatment with chitosan on percentage and germination rate was significant at 1% level. In salinity stress, chitosan increased the fresh and dry length and weight of roots and shoots, relative leaf water content and potassium content. Especially at concentrations of 100 and 150 mM salt with chitosan, the effect was more pronounced than salinity treatment at the same concentration. In these treatments, electrolyte leakage and sodium content were reduced. It is likely that chitosan under salinity stress and change of gene expression has increased plant tolerance by maintaining the relative leaf water content, increasing potassium and growth of shoot and root and reduce the negative effects of stress on rapeseed and increase plant resistance.

Key words: Electrolyte leakage, Gene expression, Germination, Rapeseed, Water content