

تأثیر تنش شوری و برخی بهبوددهنده‌ها بر محتوای آنتی‌اکسیدانی گیاه کاملینا (*Camelina sativa* (L.) Crantz)

علی عباسی^۱، اعظم سلیمی^{۱*}، مریم چاوشی^۱، نجیمه راستین‌دل^۱ و هانیه زیدی^۲

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۲ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۱۶)

چکیده

گیاه کاملینا (*Camelina sativa*) گیاهی گل‌دار از تیره کلمیان Brassicaceae است. این گیاه متحمل به سرما و دارای ارزش غذایی بالا و گیاهی چند منظوره است. تنش شوری یک مشکل در حال گسترش در زمین‌های کشاورزی ایران و جهان است که رشد و نمو گیاهان را کاهش می‌دهد. اینکه این گیاه نسبت به تنش شوری چه واکنشی دارد و چگونه می‌شود مقاومت آن را بهبود بخشید در این مقاله مورد توجه قرار گرفته است. بهبوددهنده‌های مختلفی برای افزایش مقاومت در برابر تنش‌ها توصیه شده است. در این پژوهش بر روی گیاه کاملینا، کیتوزان و آهن همراه با شوری اعمال شده است. کیتوزان از ترکیباتی است که سبب تحریک سیستم ایمنی گیاه جهت محافظت در برابر عوامل تنش‌زا می‌شود و عنصر آهن نیز در ساختار سیتوکروم‌ها، در فتوسنتز و تنفس، در تثبیت N₂ نقش مهمی دارد. جهت عملی کردن این پژوهش، این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های تصادفی با سه تکرار در دانشگاه خوارزمی در سال ۱۴۰۲ انجام شد. در پژوهش حاضر سطوح شوری ۰، ۸، ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر معادل ۰، ۵/۱۲، ۷/۶ گرم بر لیتر کلرید سدیم مورد بررسی قرار گرفت و تیمار کیتوزان با غلظت‌های صفر، ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر و آهن نیز با غلظت‌های صفر، ۳ و ۶ گرم بر لیتر و برهمکنش غلظت‌های مختلف آن‌ها، جهت بهبود رشد مورد بررسی قرار گرفت. در پی تنش شوری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مختلف واکنش متفاوتی از خود نشان دادند. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پی افزایش تنش شوری و در مقایسه با شاهد ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در مقایسه با شاهد در ابتدا افزایش داشته و در ادامه تغییرات چندانی ثبت نکرد و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (PAL) با افزایش تنش شوری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در بررسی همزمان اثر الیسیتور کیتوزان و عنصر آهن و تنش شوری مشاهده شد که الیسیتور کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز، رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر اندام هوایی و کاهش مالون دآلدئید، آب اکسیژنه، آسکوربات پراکسیداز و آنتوسیانین موجب بهبود شرایط تنش گردیده که این امر این نشان‌دهنده آن است که اثر الیسیتور و عنصر آهن بر تنش شوری بهبوددهنده بوده است.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آهن، شوری، کاملینا، کیتوزان

مقدمه

شوری یک مشکل در حال گسترش در خاک‌های کشاورزی است که رشد و نمو گیاهان را در مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند (Navarro-Torre *et al.*, 2023). کشور ایران به دلیل شرایط ویژه اقلیمی، مناطق وسیعی از اراضی شور و کویری را در خود جای داده است. وسعت اراضی خاک‌های شور در کشور حدود ۲۳ میلیون هکتار است که معادل ۳ درصد از مساحت کل کشور است (FAO, 2019). غلظت‌های زیاد نمک‌های محلول با افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی و محدود کردن جذب آب از ریشه (قمرنیا، ۱۳۹۸)، تجمع مواد شیمیایی خطرناک و تولید ROS بر رشد گیاهان و در نتیجه بر تولیدات کشاورزی اثر می‌گذارند. بنابراین، تنش شوری به یکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای غیرزیستی تبدیل شده است که می‌تواند عملکرد محصول را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد (Alkharabsheh *et al.*, 2021).

گیاه کاملینا (*Camelina sativa* (L.) Crantz) از تیره کلمیان Brassicaceae، گیاهی گل‌دار و با چرخه رشد یک‌ساله است (Ghidoli *et al.*, 2024). کاملینا بومی اروپا و آسیای جنوبی به ویژه فنلاند، رومانی، روم، یونان و کوه‌های اورال در اروپا است و سابقه کشت و کار آن به ۴۰۰۰ سال پیش بر می‌گردد. در زمان روم و یونان باستان کشت این گیاه به‌عنوان یک گیاه روغنی توسعه یافت و بزرگ‌ترین تولیدکننده این گیاه در قرن بیستم اتحاد جماهیر شوروی بود. زمان ورود گیاه کاملینا به ایران را می‌توان از سال ۱۳۹۲ در نظر گرفت و اولین کشت این گیاه در ایران، در اراضی تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمان صورت گرفته است (قمرنیا، ۱۳۹۸). همچنین پژوهش‌های متعددی بر روی این گیاه در کشور ایران انجام شده است. پژوهش‌ها نشان داد که پارامترهای رشدی، اسید چرب و رنگیزه‌های فتوستتزی (فانی و حاجی‌هاشمی، ۱۴۰۲)، جوانه‌زنی (همایی و همکاران، ۱۴۰۰) گیاه کاملینا در پی تنش شوری کاهش پیدا می‌کنند.

کیتوزان یک پلیمر طبیعی است و از داستیله‌شدن کیتین به وجود می‌آید. کیتوزان در القای سیستم دفاعی در میوه‌ها و

سبزیجات قبل و بعد از برداشت در برابر قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و سایر تنش‌های غیرزنده استفاده شده است. علاوه بر آن، کیتوزان به‌طور مؤثر خواص فیزیولوژیکی گیاهان را بهبود می‌بخشد و همچنین ماندگاری محصولات پس از برداشت را افزایش می‌دهد. علاوه‌براین، تیمار کیتوزان باعث فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ دفاعی گیاه و بیان برخی ژن‌های مربوط به سنتز فیتوالکسین‌ها و پروتئین‌ها در گیاهان می‌شود. علاوه‌براین، کیتوزان در خاک به عنوان یک ماده مغذی گیاهی استفاده شده است و در ترکیب با سایر کودهای صنعتی بدون تأثیر بر میکروبیوم‌های مفید خاک، کارایی زیادی از خود نشان داده است (Sharif *et al.*, 2018).

آهن همچنان یکی از عناصر ضروری و با مصرف کم در بیشتر گیاهان و یکی از ریزمغذی‌های ضروری برای بقای گیاهان است، به‌طوری‌که اگر آهن به مقدار کافی در دسترس گیاه قرار نگیرد، گیاه دچار کمبود آهن، بیماری یا زرد شدن برگ‌ها می‌شود که در آن چرخه فتوسنتز مختل شده و با کاهش رشد و بهره‌وری جدی محصول مواجه خواهد شد (Mozafari *et al.*, 2023). این عنصر به اشکال مختلف معدنی در خاک وجود دارد. عنصر آهن جزء اصلی ساختار آنزیم‌های مختلف مانند سیتوکروم‌های زنجیره انتقال الکترون و برخی رنگدانه‌ها است و در فرآیندهای بیوشیمیایی گیاهان مانند فتوسنتز، تنفس سلولی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، تشکیل ریشه و تشکیل آنزیم کاربرد دارند (Mozafari *et al.*, 2023). برخی پژوهش‌ها نشان داده که تیمار آهن توانسته درصد و سرعت جوانه‌زنی و پارامترهای رشد را در سالیکورنیا را افزایش دهد (ریاحی‌نیا و دانایی‌پور، ۱۴۰۱).

در این پژوهش به‌منظور بالابردن تحمل گیاه کاملینا به تنش شوری اثر محرک‌هایی همچون کیتوزان و آهن در جهت افزایش رنگیزه‌های فتوستتزی و بهبود رشد و از سوی دیگر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی جهت کاهش رادیکال‌های آزاد مورد بررسی قرار داده شده است.

مواد و روش‌ها

جدول ۱- آنالیز خاک

اسیدیته	هدایت الکتریکی	ظرفیت زراعی	خاک	سیلت	شن	بافت خاک
۲/۷	۱/۹ds/m	٪۲۰	٪۱۹	٪۱۷	٪۶۴	لومی - شنی

سه ماه پس از کاشت گیاهان (BBCH 90) و بعد از پایان تیمارها، ریشه و اندام هوایی جهت بررسی برداشته شدند.

اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی: جهت محاسبه وزن تر پس از برداشت گیاهان، اندام‌های هوایی و ریشه‌های هر تکرار به‌طور جداگانه وزن شد. سپس جهت محاسبه وزن خشک نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس وزن تر اندام هوایی گیاه، بر حسب گرم با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

سنجش رنگی‌های فتوستتزی (کلروفیل و

کاروتنوئیدها): ۰/۱ گرم بافت تازه برگ پنجم در فاز رویشی را در هاون چینی حاوی ۵ سی‌سی استن ۸۰ درصد خوب ساییده شد. محتوای هاون را با کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف کرده و در ظرف شیشه‌ای ریخته سپس ۵ میلی‌لیتر استن دیگر به آن اضافه کرده و حجم محلول را به ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول حاوی کلروفیل‌های *a*، *b* و کاروتنوئیدها است. ۳ میلی‌لیتر از این محلول را در کووت ریخته و شدت جذب آن در طول‌موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Visible خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفوتومتر از استن ۸۰ درصد به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت این رنگی‌ها با استفاده از روابط زیر به دست می‌آید (Lichtenthaler, 1987).

$$\text{Chl.a (mg ml}^{-1}\text{)} = 12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}$$

$$\text{Chl.b (mg ml}^{-1}\text{)} = 21.51 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}$$

$$\text{Chl.Total (mg ml}^{-1}\text{)} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

$$\text{Car (mg ml}^{-1}\text{)} = (1000A_{470} - 1.8\text{Chl.a} - 85.02\text{Chl.b}) / 198$$

که در این فرمول *Chl a*، *Chl b*، *Chl T* و *Car* به ترتیب معرف غلظت کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها شامل کاروتن‌ها و گزانتوفیل‌ها برحسب mg.ml^{-1} عصاره گیاهی است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگی‌های فتوستتزی بر حسب میلی‌گرم وزن تر محاسبه و

برای مطالعه اثر تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه کاملینا، آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های تصادفی با سه تکرار طراحی شد. بذرهای گیاه کاملینا رقم سهیل از مراکز تحقیقاتی کرمانشاه (دانشگاه رازی) تهیه شد. در ابتدا آنالیز خاک صورت گرفت (جدول ۱)؛ و کشت بذرها در گلدان‌های حاوی خاک تنظیم شده (نسبت ۱ به ۱ ماسه و خاک باغچه) در گلخانه فیزیولوژی گیاهی واقع در دانشگاه خوارزمی کرج در سال ۱۴۰۲ انجام شد. کاشت به‌منظور کنترل یون‌ها در محیط‌کشت آبیاری گلدان‌ها با آب‌مقطر انجام شد و در هر نوبت آبیاری، به اندازه ظرفیت زراعی گلدان به گیاهان آب داده شد. شرایط گلخانه‌ای شامل دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵٪ و نور طبیعی خورشید به‌علاوه نور مهتابی و لامپ‌های ۱۰۰ وات با دوره ۱۱ ساعت تاریکی و ۱۳ ساعت روشنایی کنترل می‌شد و آبیاری با آب‌مقطر بر اساس ظرفیت زراعی انجام شد. پس از بیست روز از کاشت بذرهای گیاه به مرحله چهار برگی می‌رسد که در طی این مدت فقط آبیاری با آب‌مقطر انجام شد. پس از آن تا مرحله ۲۰ برگی گیاهان تحت تنش شوری با محلول کلرید سدیم خالص در سه سطح غلظت صفر، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر معادل صفر، ۵/۱۲ و ۷/۶ گرم بر لیتر آبیاری شد. لازم به یادآوری است چنانچه که تبادل الکتریکی (EC) بر حسب دسی‌زیمنس بر متر باشد با استفاده از فرمول زیر غلظت مولار نمک‌ها محاسبه شد

$$C_{\text{ppm}} = 640 \times \text{EC (ds/m)}$$

در مرحله ۲۰ برگی آبیاری متوقف شد. تیمار آهن (Fe-EDTA)، تهیه‌شده از شرکت دیپوفر، همراه با آب آبیاری در سه سطح صفر، ۳ و ۶ گرم بر لیتر هفته‌ای یک‌بار تا اواخر مرحله رویشی اعمال شد. تیمار کیتوزان به صورت محلول‌پاشی بر روی برگ‌ها در سه سطح صفر، ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر بعد از اعمال تیمار شوری با فاصله زمانی اعمال شد.

ارائه شد.

سنجش رنگیزه آنتوسیانین: به منظور سنجش محتوای آنتوسیانین ۰/۲ گرم وزن تر برگ و ریشه در ۳ میلی لیتر محلول متانول اسیدی (شامل متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱ بود) خوب ساییده و عصاره حاصل در ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی پس از صاف شدن به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شد. جذب این ماده در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین ها از ضریب خاموشی معادل $33000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد و غلظت آنتوسیانین بر اساس میلی مول در گرم وزن تر محاسبه شد (Masukasu et al., 2003).

سنجش میزان مالون دی آلدئید (MDA): به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدئید به عنوان محصول نهایی این واکنش و بر اساس روش (De Vos and Schat, 1991) بررسی شد. مالون دی آلدئید با تیوباربیتیک اسید (TBA) تشکیل کمپلکس رنگی می دهد که می توان غلظت آن را با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری کرد. بدین جهت ۱۰۰ میلی گرم وزن تر از نمونه های منجمد شده با ۳ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد (TCA) عصاره گیری و سپس با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به یک میلی لیتر از محلول رویی ۴ میلی لیتر تیوباربیتیک اسید (TBA) ۰/۵ درصد در TCA ۲۰ درصد اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه قرار می گیرد و بلافاصله بر روی یخ سرد شد. جذب نوری نمونه ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری ثبت شد. میزان MDA با استفاده از ضریب جذب ثابت ($\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و تفاوت جذب در دو طول موج ذکر شده بدست می آید (De Vos and Schat, 1991).

سنجش میزان پراکسید هیدروژن H_2O_2 : طبق این روش، ۵۰۰ میلی گرم بافت تر را در حمام یخ با ۵ میلی لیتر TCA ۰/۱٪ ساییده شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور

سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی لیتر از محلول روشنآور را با ۰/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی مولار با (pH=۷) و یک میلی لیتر KI یک مولار مخلوط کرده، سپس جذب نمونه ها را در ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از پراکسید هیدروژن رسم شده و با استفاده از آن میزان H_2O_2 موجود در نمونه ها بر حسب mM.gFW^{-1} محاسبه گردید (Velikova et al., 2000).

سنجش آسکوربات پراکسیداز: به منظور استخراج آنزیم از همان روش استخراج پروتئین استفاده شد به طوری که ۲ گرم بافت تر در هاون چینی محتوی ۴ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۶/۸) بر روی یخ و در محیط تاریک به خوبی سائیده شد. پس از آن همگن سازی سانتریفیوژ نمونه ها در سرعت ۴۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد. فعالیت این آنزیم بر اساس روش (Amako et al., 1994) اندازه گیری شد. در این روش مخلوط واکنش با حجم ۳ میلی لیتر حاوی ۲/۴۹۰ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرو لیتر آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، ۳۰ میکرو لیتر آب اکسیژنه ۰/۱۵ میلی مولار، ۳۰ میکرو لیتر EDTA ۰/۱ میلی مولار و ۱۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. با شروع واکنش آنزیمی و به دنبال کاهش جذب، اکسید شدن آسکوربات اتفاق می افتد که این فرایند در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی بر حسب واحد تغییرات در دقیقه به ازای میلی گرم پروتئین بیان شد.

سنجش گایاکول پراکسیداز: به منظور استخراج آنزیم از همان روش استخراج پروتئین استفاده شد به طوری که ۲ گرم بافت تر در هاون چینی محتوی ۴ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۶/۸) بر روی یخ و در محیط تاریک به خوبی سائیده شدند. پس از آن همگن سازی سانتریفیوژ نمونه ها در سرعت ۴۰۰۰ g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد انجام شد. مخلوط واکنش شامل ۱۹۰۰ μl بافر فسفات سدیم ۶۰ Mm (pH=۶/۱)، ۳۰۰ μl گایاکول ۲۸ Mm و ۳۰۰ μl عصاره آنزیمی هست. هیدروژن پراکسید ۵ Mm و ۵۰۰ μl عصاره آنزیمی هست.

نتایج حاصل از اثر تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر وزن تر اندام هوایی در گیاه کاملینا تحت تنش شوری: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های وزن تر اندام هوایی در تیمارهای شوری، کیتوزان، آهن و اثر متقابل آن‌ها در سطوح ۰/۰۰۱ درصد معنی‌دار است. نتایج حاصل از بررسی داده‌ها نشان داد که وزن تر اندام هوایی در شوری ۸ دسی‌زیمنس ۶۸٪ افزایش داشته ولی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌دار با شاهد نداشته است (شکل ۱).

در شرایط بدون تنش وزن تر اندام هوایی در اثر اعمال آهن با غلظت ۳ گرم بر لیتر ۱۶٪ کاهش، با غلظت ۶ گرم بر لیتر آهن ۸۴٪ افزایش داشته و کیتوزان ۰/۴ بر وزن تر اثر معنی‌داری نداشته است. این در حالی است که کیتوزان ۰/۲ توانسته وزن تر اندام هوایی را ۹۳٪ افزایش دهد. وزن تر اندام هوایی در تیمارهای (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴ و ۰/۲) و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) در مقایسه با شاهد به ترتیب ۸۸٪، ۵۴٪ و ۹۸٪ افزایش داشته و در (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) ۳۴٪ کاهش معنی‌داری داشته است. (شکل ۱).

در تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر وزن تر اندام هوایی در تیمارهای (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) ۹٪ و (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) ۱۵٪ افزایش داشته و در سایر تیمارها اعم آهن ۳ گرم بر لیتر ۹٪ آهن ۶ گرم بر لیتر ۶۹٪، کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر ۵۵٪، کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر ۵۸٪ و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) ۴۱٪ کاهش داشته است. (شکل ۱).

در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر وزن تر اندام هوایی در تیمارهای کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ به ترتیب ۸۶٪ و ۲۲٪ افزایش یافته است. آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر ۲۰٪ و ۷۴٪ و اثر متقابل (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴ و ۰/۲) ۸۲٪ و ۹۶٪ وزن تر اندام هوایی را افزایش داده، این در حالی است که تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴ و ۰/۲) گرم بر لیتر اثر معنی‌داری نداشته است (شکل ۱).

نتایج حاصل از اثر تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر محتوای کلروفیل *a*، *b*، کل و کاروتنوئیدها در گیاه کاملینا تحت تنش شوری: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های رنگی‌های

جذب نمونه‌ها در طول زمان یک دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شدند. فعالیت آنزیم به صورت تغییرات پراکسیداسیون گایاکول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Abdolmaleki et al., 2007).

سنجش فنیل آلانین آمونیا لیاژ (PAL): فنیل آلانین آمونیا لیاژ واکنش تبدیل فنیل آلانین به سینامیک اسید را کاتالیز می‌کند. در این روش از فنیل آلانین به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده می‌شود و فعالیت آنزیم بر حسب مقدار سینامیک اسید تولید شده محاسبه شد (D'Cunha et al., 1996). به منظور استخراج آنزیم از همان روش استخراج پروتئین استفاده شد به طوری که، ۲ گرم بافت تر در هاون چینی محتوی ۴ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=۶/۸) بر روی یخ و در محیط تاریک به خوبی سائیده شدند. پس از آن همگن‌سازی سانتریفیوژ نمونه‌ها در سرعت ۴۰۰۰g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم شامل ۶۰۰ میکرولیتر بافر تریس ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۸/۸، ۹۰۰ میکرولیتر فنیل آلانین ۲ میلی‌مولار و ۸۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. واکنش تولید سینامیک اسید حاصل از فنیل آلانین با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال متوقف شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس و مخلوط حاصل در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان جذب بخش شفاف بالایی که حاوی ترانس سینامیک اسید است در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد (Gao et al., 2008).

آزمایش به صورت فاکتوریل، در قالب طرح بلوک‌های تصادفی و با سه تکرار انجام شد. برای تجزیه آماری از نرم‌افزارهای SPSS, Excel ویرایش ۲۲ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

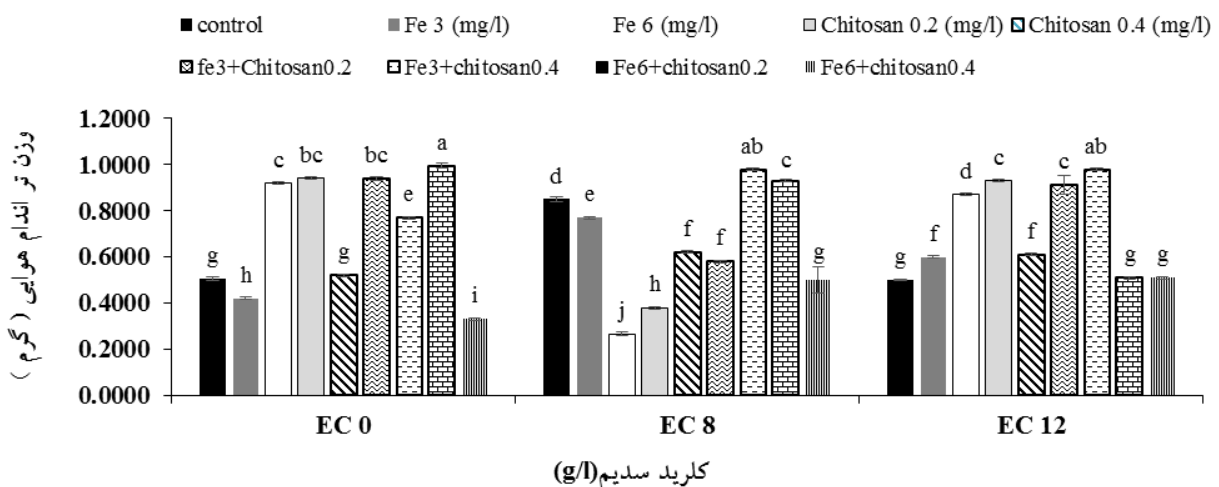
نتایج

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه کاملینا در تیمار شوری، کیتوزان و آهن

منبع تغییرات	درجه آزادی	MDA	آنتوسیانین	H ₂ O ₂	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
شوری	۲	۱۵۳/۹۳***	۹/۱۱۷***	۴۲/۵۷***	۰/۰۰۸***	۰/۰۰۴***	۰/۰۲۲***
آهن	۲	۹۷۰/۸۴***	۲۸/۰۸***	۸۸/۴۴***	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۶***	۰/۰۱۵***
کیتوزان	۲	۴۰۷۸/۱۸***	۱/۰۰۲***	۱۵/۹۷***	۰/۰۴۳***	۰/۰۱۰***	۰/۰۹۳***
شوری×آهن	۴	۱۲۳۹/۸۲***	۱۶/۶۹***	۰/۲۲۳ ^{ns}	۰/۰۰۳***	۰/۰۰۱***	۰/۰۰۹***
شوری×کیتوزان	۴	۲۰۵۹/۱۲***	۴/۵۲***	۱۰/۰۹۹***	۰/۰۲۳***	۰/۰۰۳***	۰/۰۴۳***
کیتوزان×آهن	۴	۱۶۳۱/۸۵***	۲۱/۷۰***	۹۳/۰۷***	۰/۰۳۰***	۰/۰۰۸***	۰/۰۶۶***
شوری×آهن×کیتوزان	۸	۱۰۳۴/۴۴***	۶/۵۲***	۲۳/۱۸۳***	۰/۰۰۸***	۰/۰۰۲***	۰/۰۱۶***
خطای آزمایش	۵۴	۱۹/۰۱۵	۰/۱۰۲	۱/۰۵۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱

ادامه جدول ۲-

منبع تغییرات	درجه آزادی	کاروتنوئید کل	وزن تر اندام هوایی	آسکوربات پراکسیداز	فنیل آلانین آمونولیاز	گایاکول پراکسیداز
شوری	۲	۰/۰۰۰*	۰/۰۲۹***	۰/۳۷۱***	۱/۲۱۵**	۰/۰۰۶***
آهن	۲	۰/۰۰۲*	۰/۱۳۸***	۰/۸۰۸***	۷/۱۵۲ ^{ns}	۰/۰۰۳***
کیتوزان	۲	۰/۰۰۲*	۰/۲۰۸***	۰/۰۳۰**	۳/۷۵۳***	۰/۰۰۱***
شوری×آهن	۴	۰/۰۰۰***	۰/۰۴۵***	۰/۰۳۵***	۹/۹۰۷**	۰/۰۰۲***
شوری×کیتوزان	۴	۰/۰۰۱***	۰/۱۴۹***	۰/۰۲۹**	۴/۳۴۷*	۰/۰۰۰**
کیتوزان×آهن	۴	۰/۰۰۱***	۰/۲۰۲***	۰/۹۷۳***	۳/۷۹۵***	۰/۰۰۰ ^{ns}
شوری×آهن×کیتوزان	۸	۰/۰۰۱***	۰/۲۲۹***	۰/۲۷۸***	۲/۵۱۱***	۰/۰۰۱***
خطای آزمایش	۵۴	۴/۰۳۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۵	۲/۵۴۷	۰/۰۰۰



شکل ۱- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر وزن تر اندام هوایی گیاه کاملینا

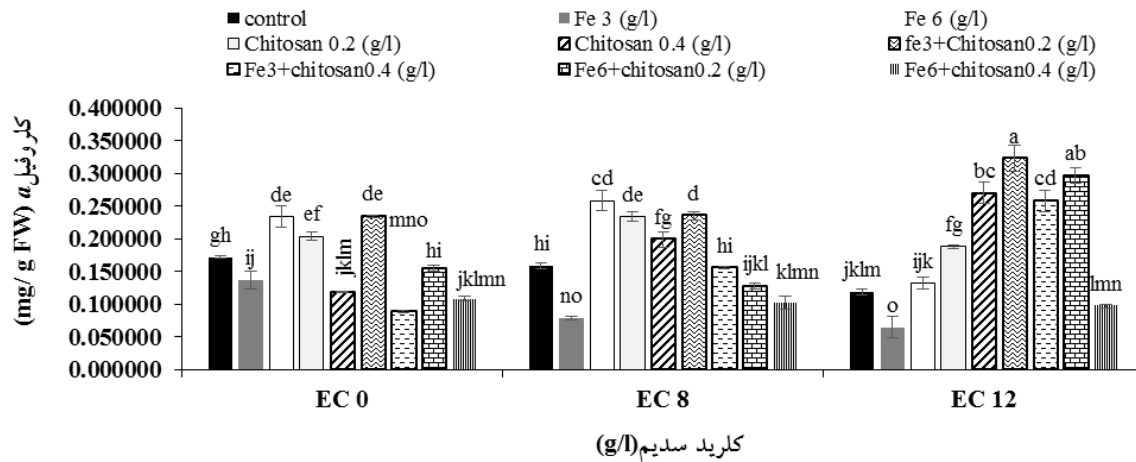
فتوستتزی در تیمارهای شوری، کیتوزان، آهن و اثر متقابل آن‌ها به ترتیب در سطوح ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد معنی‌دار است. نمودارهای (۲، ۳، ۴ و ۵) نشان دادند که محتوای کلروفیل *a*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای مذکور در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته ولی کاهش ۲۰ درصدی کلروفیل *b* مشاهده شده است. در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تمامی موارد نام‌برده اعم از محتوای کلروفیل *a* (۰/۳۵)، *b* (۰/۲۸)، کلروفیل کل (۰/۳۱) در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری نشان داده است. شوری بر محتوای کاروتنوئید کل اثر معنی‌داری نداشته است.

در شرایط بدون تنش، تیمار غلظت ۳ گرم بر لیتر آهن سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل *a* (۰/۲۳)، *b* (۰/۵۳) و کلروفیل کل (۰/۳۴) در مقایسه با شاهد شده و از طرفی موجب افزایش ۶۶ درصدی کاروتنوئید کل گردیده است. تیمار آهن ۶ گرم بر لیتر موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل *a* در مقایسه با شاهد و کاهش کلروفیل *b* در مقایسه با شاهد شده و بر کاروتنوئید و کلروفیل کل اثر معنی‌دار نداشته است. کلروفیل *a* در سطح ۰/۲ گرم بر لیتر کیتوزان در مقایسه با شاهد ۱۷٪ افزایش و کلروفیل *b*، ۲۰٪ کاهش معنی‌دار داشته است. غلظت مذکور بر کلروفیل کل و کاروتنوئیدها اثری نداشته است. کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر در شرایط بدون تنش باعث کاهش همه رنگیزه‌های فتوستتزی شده است. تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر در شرایط بدون تنش باعث افزایش ۳۵ درصدی کلروفیل *a* و ۱۸ درصدی کلروفیل کل شده است ولی محتوای کاروتنوئیدها و کلروفیل *b* بدون تغییر بوده است. تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث کاهش ۱۲ درصدی کلروفیل *a*، ۲۶ درصدی کلروفیل *b*، ۱۵ درصدی کلروفیل کل و ۴۲ درصدی کاروتنوئیدها شده است. تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر در شرایط بدون تنش به ترتیب باعث کاهش کلروفیل *a*، *b*، کل و کاروتنوئیدها (۰/۴۰، ۰/۵۳، ۰/۴۳ و ۰/۵۲) شده است (نمودارهای ۲، ۳، ۴ و ۵).

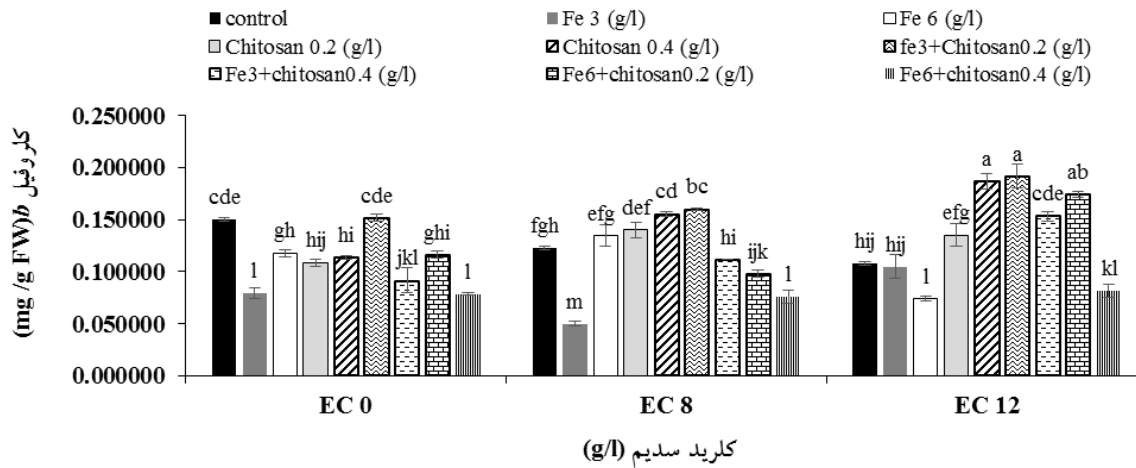
در شرایط تنش در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، تیمار آهن ۳ گرم بر لیتر، باعث کاهش ۵۰٪ کلروفیل *a*، ۵۸٪

کلروفیل *b*، ۵۷٪ کلروفیل کل و ۴۰٪ کاروتنوئیدها شده است. آهن ۶ گرم بر لیتر باعث افزایش ۴۰٪ کلروفیل *a*، ۳۹٪ کلروفیل کل و ۱۳٪ کاروتنوئیدها شده است. تیمار نام‌برده بر کلروفیل *b* اثر معنی‌داری نداشته است. کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر باعث تغییرات زیر شده است. کلروفیل *a* (۳۲٪) افزایش - ۲۶٪ (افزایش) و *b* (بدون تغییر، ۲۷٪) افزایش، کل (۳۲٪) افزایش - ۲۵٪ (افزایش) و کاروتنوئیدها (۶۶٪) افزایش - بدون تغییر) در مقایسه با شرایط شوری شده است. تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث افزایش لیتر باعث افزایش ۵۳٪ در کلروفیل *a*، ۳۱٪ در کلروفیل *b*، ۳۹٪ در کلروفیل کل شده است. تیمار نام‌برده بر محتوای کاروتنوئیدها اثر معنی‌داری نداشته است. تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر تأثیری بر کلروفیل *a*، *b*، کل و کاروتنوئیدها نداشته است. تیمارهای همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث کاهش کلروفیل *b* (۱۹٪)، کل (۲۱٪) و کاروتنوئیدها (۵۳٪) شده است. تیمار نام‌برده بر کلروفیل *a* اثری نداشته است. تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر باعث کاهش کلروفیل *a* (۱۹٪) کلروفیل *b* (۳۷٪)، کل (۳۰٪) و کاروتنوئیدها (۳۸٪) شده است (نمودارهای ۲، ۳، ۴ و ۵).

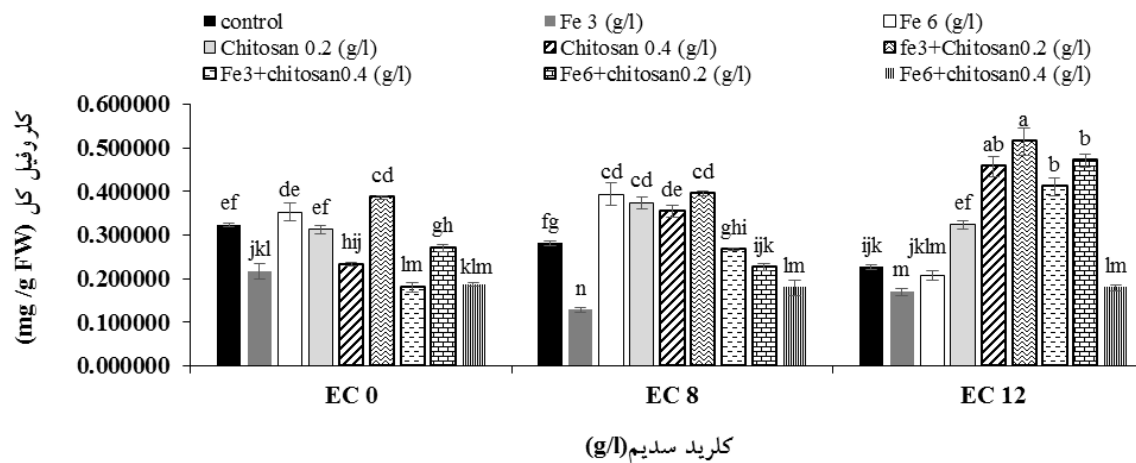
در شرایط تنش در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تیمار آهن ۳ گرم بر لیتر باعث کاهش ۵۰٪ در کلروفیل *a*، ۲۵٪ در کلروفیل کل و ۵۰٪ در کاروتنوئیدها شده ولی بر کلروفیل *b* اثر معنی‌داری نداشته است. تیمار آهن ۶ گرم بر لیتر باعث کاهش کلروفیل *b* و کاروتنوئیدها به ترتیب ۳۶٪ و ۳۸٪ شده ولی بر کلروفیل *a* و کل اثر معنی‌داری نداشته است؛ و کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر کیتوزان، باعث افزایش ۵۷٪ کلروفیل *a*، ۱۸٪ کلروفیل *b*، ۸٪ کلروفیل کل شده و ۳۸٪ کاروتنوئیدها کاهش یافته است. تیمار ۰/۴ گرم بر لیتر کیتوزان، باعث افزایش کلروفیل *a* و *b* و کل (۱۲۵٪، ۶۳٪ و ۴۲٪) شده است. تیمار مذکور بر محتوای کاروتنوئیدها اثر معنی‌داری نداشته است. تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث افزایش کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئیدها شده است (۱۹۶٪، ۷۲٪، ۱۰۴٪ و ۳۵٪). تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر کلروفیل *a* گیاه کاملینا

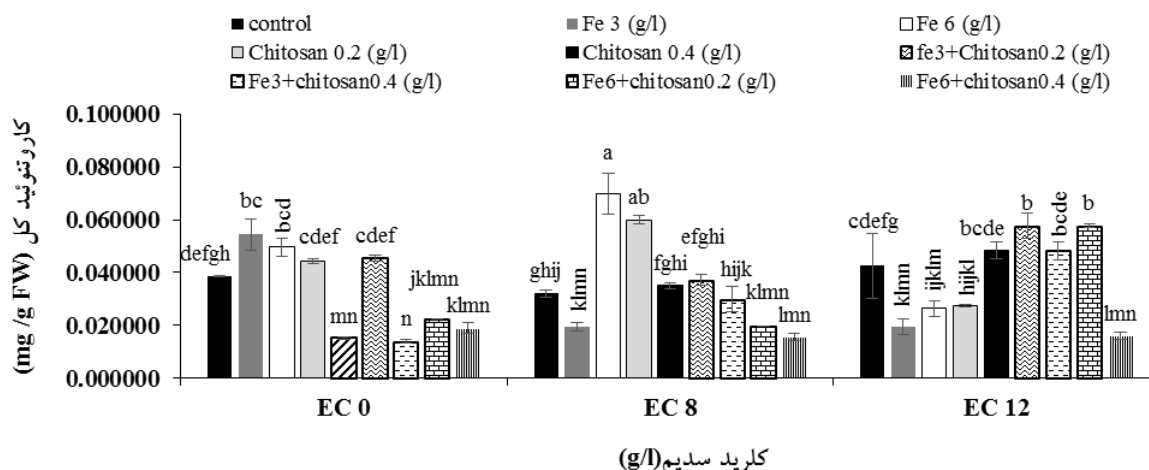


شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر کلروفیل *b* گیاه کاملینا



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر کلروفیل کل گیاه کاملینا

۰/۴) گرم بر لیتر باعث افزایش کلروفیل *a*، *b* کلروفیل کل (۱۰۸٪، ۲۵٪ و ۱۲۷٪) شده، در این تیمار محتوای کارنوئیدها



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر کاروتنوئید کل گیاه کاملینا

۶، کیتوزان ۰/۲) و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) به ترتیب ۳۶۹٪ و ۱۱۷٪ گرم بر لیتر باعث افزایش آنتوسیانین در مقایسه با شاهد شده است. در این شوری بیشترین آنتوسیانین را تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر به خود اختصاص داد (شکل ۶).

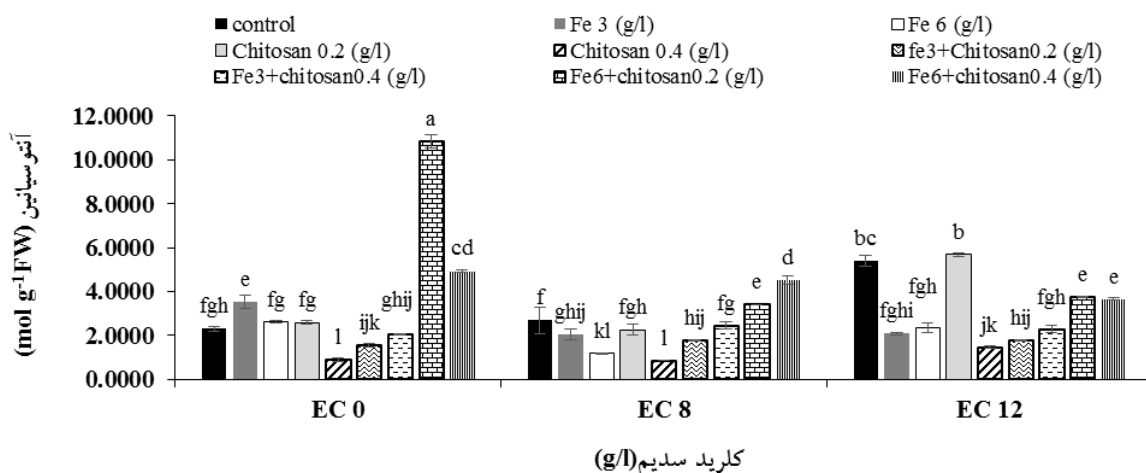
بررسی‌ها نشان داد در شوری ۸ دسی‌زیمنس همه تیمارها نسبت به شاهد و شوری ۸ دسی‌زیمنس کاهش داشته‌اند به‌جز تیمارهای همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر که باعث افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین در مقایسه با شرایط تنش شده‌اند. در این شوری بیشترین مقدار آنتوسیانین (۶۶٪) را تیمار همزمان (آهن ۶ کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر به خود اختصاص داده است و کمترین را تیمار کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر (۶۷٪) به خود اختصاص داده است. آنتوسیانین در تیمارهای کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر تغییر معنی‌داری نداشت (شکل ۶).

بررسی نتایج شوری ۱۲ دسی‌زیمنس نشان می‌دهد که تمامی تیمارها اعم از آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر به ترتیب ۶۱٪، ۵۷٪، کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر ۷۲٪، اعمال تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) ۶۶٪ و ۵۷٪، تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) ۳۱٪ آنتوسیانین را کاهش داده است. کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر مقدار آنتوسیانین را در مقایسه با

تغییر معنی‌داری نداشته است. تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث افزایش همه رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است (به ترتیب ۱۴۰٪، ۵۴٪، ۱۲٪ و ۳۸٪). تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم لیتر باعث کاهش همه رنگیزه‌های فتوسنتزی شده است (به ترتیب ۷۱٪، ۲۷٪، ۲۲٪ و ۶۹٪) (نمودارهای ۲، ۳، ۴ و ۵).

نتایج حاصل از اثر تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر محتوای آنتوسیانین در گیاه کاملینا تحت تنش شوری: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های آنتوسیانین در تیمارهای شوری، کیتوزان، آهن و اثر متقابل آن‌ها در سطوح ۰/۰۰۱ درصد معنی‌دار است داده‌ها نشان داد که شوری موجب افزایش معنی‌دار آنتوسیانین نسبت به گیاه شاهد شد به‌طوری‌که بیشترین افزایش (۱۳۴٪) در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس مشاهده گردید (شکل ۶).

بررسی نتایج در شرایط بدون تنش نشان داد که اعمال تیمارهای آهن ۶ گرم بر لیتر، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) بر محتوای آنتوسیانین برگ اثر معنی‌داری نداشته ولی تیمار آهن ۳ گرم بر لیتر (۵۲٪) آن را افزایش داده است. تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر باعث کاهش ۴۵٪ آنتوسیانین نسبت به شوری شاهد شد، این در صورتی است که اعمال تیمار همزمان (آهن



شکل ۶- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر محتوای آنتوسیانین در گیاه کاملینا

موجب افزایش ۱۳۹٪ و ۱۹۶٪ میزان پراکسید هیدروژن در مقایسه با شرایط تنش شده است و مابقی تیمارها در این شرایط تنش فاقد اثرات معنی‌دار بودند (شکل ۷).

در شرایط تنش در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اعمال آهن ۶ گرم بر لیتر و کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر بر پراکسید هیدروژن اثر معنی‌داری نداشته است. پراکسید هیدروژن در تیمار ۳ گرم بر لیتر آهن ۳۹٪، تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) ۲۱٪ و ۳۰٪، تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) ۴۴٪ و ۴۱٪ کاهش معنی‌داری داشته است (شکل ۷).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر مالون دی‌آلدئید MDA در گیاه کاملینا: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های مالون دی‌آلدئید در تیمارهای شوری و آهن در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است. تیمار کیتوزان در شرایط بدون تنش و اثر متقابل تیمارهای شوری، کیتوزان و آهن در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار است. بررسی داده‌ها نشان می‌دهد که میزان MDA در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر ۹۵٪ افزایش در مقایسه با شاهد پیدا کرده است (شکل ۸).

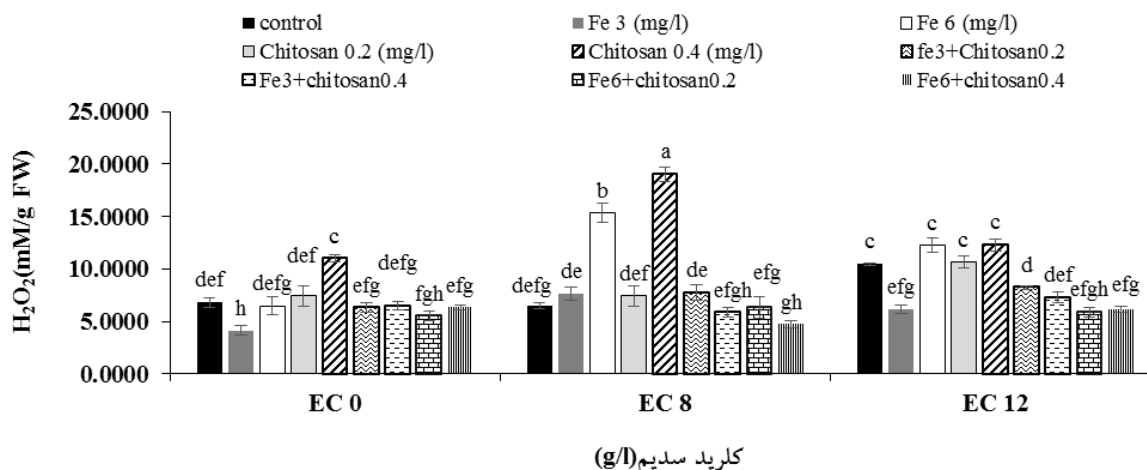
در شرایط بدون تنش تیمار همزمان (آهن ۳ و ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر باعث افزایش (۳۰۴٪ و ۲۸۶٪) محتوای MDA برگ شده است. سایر تیمارها اثر معنی‌داری بر محتوای

شوری ۱۲ دسی‌زیمنس اثر معنی‌داری نداشته است (شکل ۶). نتایج حاصل از اثر تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر محتوای H₂O₂ در گیاه کاملینا تحت تنش شوری: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های آب اکسیژنه در تیمارهای شوری، کیتوزان، آهن در سطح ۰/۰۰۱ درصد معنی‌دار است. اثر متقابل تیمارهای شوری و آهن تفاوت معنی‌داری نداشته و اثر متقابل سه تیمار آهن، شوری و کیتوزان در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار بوده است.

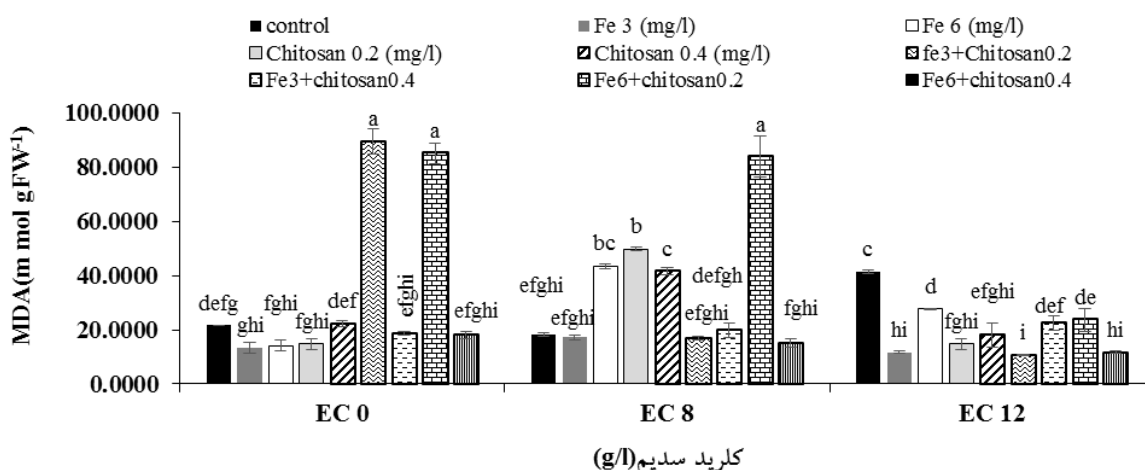
بررسی نمودار نشان می‌دهد که محتوای پراکسید هیدروژن در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد تغییر چندانی نداشته است اما در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش معنی‌دار (۱۲٪) در مقایسه با شاهد از خود نشان داده است (شکل ۷).

بررسی نمودار داده‌ها نشان می‌دهد که در شرایط بدون تنش پراکسید هیدروژن در اثر اعمال تیمار آهن ۳ گرم بر لیتر در مقایسه با شاهد ۳۹٪ کاهش داشته است اما اعمال تیمار کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر کیتوزان باعث افزایش ۶۱٪ میزان پراکسید هیدروژن در مقایسه با شاهد شده است. بقیه تیمارها در مقایسه با شاهد فاقد اثرات معنی‌دار بودند (شکل ۷).

در شرایط تنش در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس برگ تر تیمار آهن ۶ گرم بر لیتر و تیمار کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر



شکل ۷- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر پراکسید هیدروژن گیاه کاملینا



شکل ۸- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر میزان MDA در گیاه کاملینا

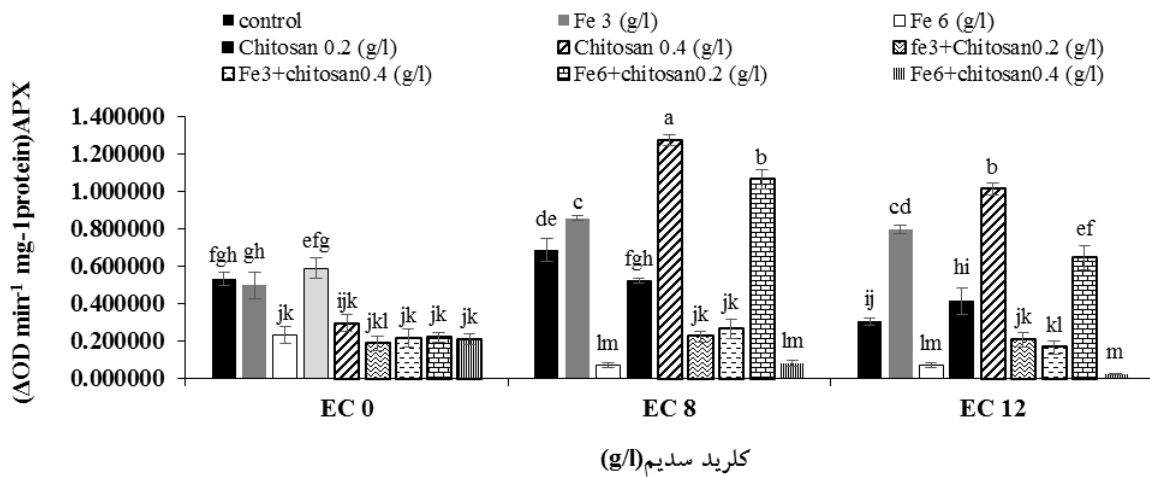
۷۳٪ (شکل ۸).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه کاملینا: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که داده‌های فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای شوری، کیتوزان، آهن و اثر متقابل آن‌ها در سطوح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار است بررسی داده‌ها نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر ۳۰٪ افزایش در مقایسه با شاهد داشته است در حالی که در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کاهش ۴۳٪ در مقایسه با شاهد ثبت شده است

MDA برگ در شرایط بدون تنش نداشته است.

در تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر، آهن ۶ گرم بر لیتر (۱۳۸٪)، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر به ترتیب ۱۷۷٪ و ۱۲۷٪ و تیمار همزمان (آهن ۶ کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر ۳۶۱٪ محتوای MDA برگ را افزایش داده است (شکل ۸).

در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در همه تیمارها محتوای MDA برگ گیاه کاملینا روند کاهش داشته که عبارت‌اند از آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر به ترتیب ۹۵٪ و ۳۴٪، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ گرم بر لیتر به ترتیب ۱۸۰٪ و ۵۶٪ و تیمار همزمان (آهن ۳ کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) گرم بر لیتر به ترتیب ۷۳٪ و ۴۶٪ و تیمار همزمان (آهن ۶ کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) گرم بر لیتر ۴۱٪ و



شکل ۹- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر آنزیم آسکوربات پراکسیداز گیاه کاملینا

آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داده است و این در حالی است که اعمال تیمارهای آهن ۶ گرم بر لیتر ۰/۷۶٪ و تیمارهای همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) ۰/۴۳٪ و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) ۰/۹۳٪ فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داده است (شکل ۹).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه کاملینا: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای همزمان کیتوزان و آهن اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نداشته است. اثر شوری و کیتوزان در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار شده و سایر تیمارها در سطح ۰/۰۰۱ درصد معنی‌دار شده است. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد ۰/۱۴۶٪ افزایش داشت و در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته است (شکل ۱۰).

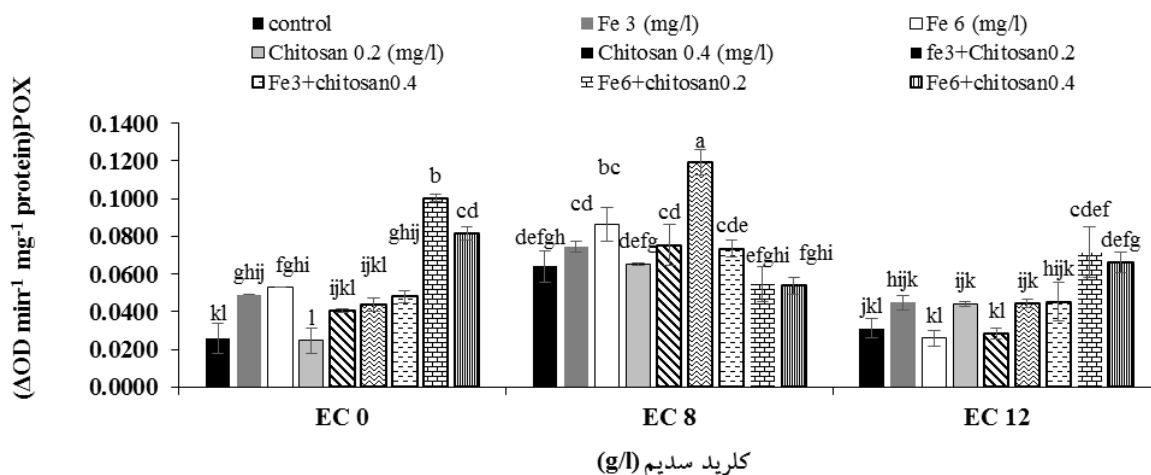
در بررسی میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در شرایط بدون تنش، اعمال تیمارهای آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر به ترتیب ۰/۱۸٪ و ۰/۱۰۳٪ و تیمارهای همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) و (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) به ترتیب ۰/۲۸۴٪ و ۰/۳۰۰٪ افزایش پارامتر مذکور را نشان داده است (شکل ۱۰).

در شرایط تنش در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر

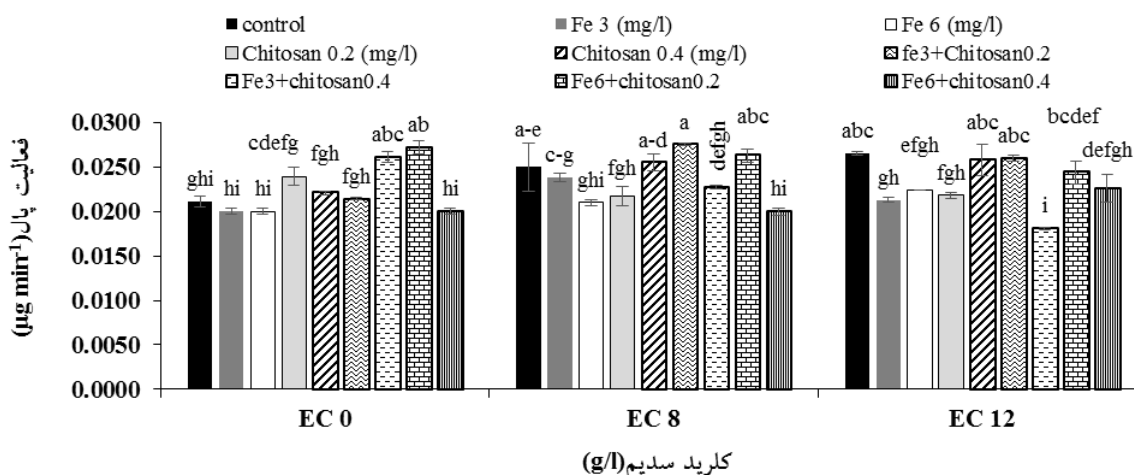
(شکل ۹). داده‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش به غیر از اعمال تیمارهای آهن ۳ گرم در لیتر و کیتوزان ۰/۲ گرم در لیتر، مابقی تیمارها میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با شاهد کاهش داده‌اند. دو تیمار ذکر شده بر فعالیت آنزیم پراکسیداز اثر معنی‌داری نداشته است. بیشترین کاهش‌ها مربوط به اعمال تیمارهای همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) ۰/۴۳٪ و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) ۰/۹۳٪ بودند (شکل ۹).

در بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر اعمال تیمارهای آهن ۳ گرم بر لیتر ۰/۲۵٪ و کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر ۰/۹۱٪ و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) ۰/۵۵٪ فعالیت این آنزیم در مقایسه با شرایط تنش شده و سایر تیمارها اعم از آهن ۶ گرم بر لیتر ۰/۸۹٪، کیتوزان ۰/۲ گرم در لیتر ۰/۲۳٪، تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) ۰/۶۷٪ و ۰/۶۱٪، تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) ۰/۸۸٪ فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داده است (شکل ۹).

در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اعمال تیمارهای آهن ۳ گرم بر لیتر ۰/۱۶۳٪ و کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر ۰/۲۳۶٪ و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) ۰/۱۱۳٪ فعالیت



شکل ۱۰- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز گیاه کاملینا



شکل ۱۱- نمایش اثر غلظت‌های مختلف تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن بر میزان آنزیم (PAL) گیاه کاملینا

گیاه کاملینا: نتایج حاصل از بررسی واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمار آهن اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پال نداشته است. تیمار شوری و تیمار همزمان شوری و آهن در سطح ۰/۰۱ درصد معنی‌دار شده است. سایر تیمارها در سطح ۰/۰۰۱ درصد معنی‌دار شده است. داده‌ها نشان می‌دهد که آنزیم PAL در شرایط تنش افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد داشته است به صورتی که بیشترین افزایش فعالیت این آنزیم در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بوده است (شکل ۱۱).

در بررسی میزان فعالیت آنزیم (PAL) در شرایط بدون تنش کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر ۰/۱۳٪، تیمارهای همزمان (آهن ۳،

اعمال تیمارهای آهن ۶ گرم بر لیتر ۰/۳۴٪ و تیمار همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (۰/۸۵٪) در مقایسه با شرایط تنش شده است و مابقی تیمارها تأثیر معنی‌داری را نداشتند (شکل ۱۰).

در شرایط تنش در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تیمارهای همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر موجب افزایش ۱۲۹ و ۱۱۲ درصدی میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شده است و مابقی تیمارها فاقد اثرات معنی‌دار بوده‌اند (شکل ۱۰).

نتایج حاصل از اثر تنش شوری و تیمارهای کیتوزان و آهن و تأثیر همزمان آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم PAL در

کیتوزان ۰/۴) افزایش داشته و در تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در تیمارهای کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴ آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر و اثر متقابل (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴ و ۰/۲) وزن تر اندام هوایی را افزایش یافته است. کیتوزان ممکن است به عنوان یک مولکول سیگنالی عمل کند که بر سنتز هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلین، اکسین و ... اثر گذاشته (Sharif et al., 2018)، از طرفی الیسیتور نامبرده بر فعالیت آکوپورین‌ها (Kapilan et al., 2018) مؤثر بوده، از این رو بر رشد و نمو گیاه اثر بگذارد. افزایش رشد اندام هوایی در گیاه کاملینا در تیمار آهن و تیمار همزمان آهن و کیتوزان باعث افزایش رشد شده است. با توجه به این‌که عنصر آهن در تشکیل کلروفیل نقش دارد پس در افزایش میزان کلروفیل و بهبود فتوسنتز و در نتیجه بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش نقش مؤثری دارد (اصل محمدی و همکاران، ۱۴۰۰).

نتایج حاصل از بررسی اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه کاملینا: در این پژوهش رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ در گیاهان تحت تنش شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان دادند. این حالت در عدس در تیمار شوری گزارش شده است (حیدری و همکاران، ۱۴۰۲). کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان در تنش شوری ممکن است به دلیل تغییر هدایت روزنه‌ای برگ‌ها، تجزیه کمپلکس پروتئین رنگدانه و مهار جذب یون‌های منیزیم باشد که جزء اصلی کلروفیل و برای سنتز آن مهم و حیاتی است (حیدری و همکاران، ۱۴۰۲). کاروتنوئیدها در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر تغییری در مقایسه با شاهد نشان نداد و در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرد. القای سنتز کاروتنوئیدها در شرایط تنش می‌تواند به دلیل نقش حفاظتی آن‌ها در ساختار فتوسنتزی باشد زیرا این رنگیزه‌ها عامل خاموش کردن اکسیژن یکتایی و محافظت از پراکسیداسیون لیپیدها و در آخر تنش اکسیداتیو هستند (خسروی و همکاران، ۱۴۰۱). در بررسی‌های این پژوهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطوح شوری ۱۲

کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر ۰/۲۳ و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر ۰/۲۸. فعالیت این آنزیم را افزایش داده است. مابقی تیمارها فاقد معنی بودند (شکل ۱۱).

در شرایط تنش در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر اعمال تیمارهای آهن ۶ گرم بر لیتر ۰/۱۶ و کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر ۰/۱۳ و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر موجب کاهش ۲۰ درصدی فعالیت آنزیم (PAL) در مقایسه با شرایط تنش شده‌اند و مابقی تیمارها فاقد اثرات معنی‌دار بوده‌اند (شکل ۱۱).

در شرایط تنش در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، آهن ۳ و ۶ گرم بر لیتر به ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۱۳، کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر ۰/۱۷، تیمارهای همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر ۰/۴۳ و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر توانسته ۰/۱۴ فعالیت آنزیم (PAL) را کاهش دهد. پارامتر مورد مطالعه در سایر تیمارها بدون تغییر بوده است (شکل ۱۱).

بحث

نتایج حاصل از بررسی اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر وزن تر ساقه گیاه کاملینا: تنش شوری به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد گیاه محسوب می‌شود (نورمحمدی و همکاران، ۱۴۰۰). در پژوهش حاضر در شوری ۸ دسی‌زیمنس افزایش وزن تر اندام هوایی مشاهده شده است. علت این افزایش را می‌توان به افزایش رشد ریشه مرتبط دانست که توانسته با جذب آب و املاح مورد نیاز گیاه، رشد اندام هوایی را سبب شده است (نتایج طول، وزن تر و خشک ریشه ارائه نشده است). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که عوامل تحمل به نمک و پارامترهای رشد پاسخ‌های متمایزی به تنش شوری نشان می‌دهند. در حالیکه غلظت کم نمک اثرات مثبتی بر رشد گیاه نشان داده است که با نتایج تنش شوری بر *Sesuvium portulacastrum* همسو است (Wang et al., 2023). در پژوهش حاضر در تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر وزن تر اندام هوایی در تیمارهای (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) و (آهن ۳،

دسی‌زیمنس بر متر تحت اعمال تیمارهای همزمان کیتوزان ۰/۲ گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۳ و ۶، کیتوزان ۰/۲ و ۰/۴) باعث افزایش رنگیزه‌های فتوستتزی شده است. پژوهشگران مشاهده کردند که کیتوزان در افزایش کلروفیل و فتوستتز اثرگذار هستند و علاوه بر این آن‌ها ثابت کردند که کیتوزان بر بیان ژن کلروپلاست برگ تأثیر دارد و تغییرات در اندازه کلروپلاست می‌تواند رشد گیاه گندم را تحریک کند (بهبودی و همکاران، ۱۳۹۸). از طرفی وجود عنصر نیتروژن در ساختار کیتوزان نقش ساختاری این عنصر در حلقه‌های تتراپیرولی کلروفیل و آهن به عنوان یکی از قسمت‌های مهم در ساختار کلروفیل سبب افزایش میزان کلروفیل می‌شود (خسروی و همکاران، ۱۴۰۱). همچنین نتایج مشابهی مبنی بر افزایش محتوای کلروفیل توسط کیتوزان در گیاه بادام‌زمینی و سویا وجود دارد از طرفی به نظر می‌رسد که آهن با توجه به این‌که در زنجیره انتقال الکترون و ساختار برخی ناقلین غشاء وجود دارد در بهبود فتوستتز و در نتیجه بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش مؤثر است (Al-Amri et al., 2020). با توجه به اینکه تیمار آهن تا حدودی رنگیزه‌های فتوستتزی را افزایش داده، این افزایش در تیمار کیتوزان نیز به خوبی مشاهده شده است. شاید بتوان این گونه توجیه کرد که تهیه محلول کیتوزان در اسید استیک تا حدودی pH سلول را حالت اسیدی نگه داشته است. با توجه به این‌که جذب آهن به اسیدیته سلول بستگی دارد. کیتوزان توانسته جذب آهن را افزایش داده از این‌رو میزان کلروفیل افزایش یابد.

تفسیر نتایج حاصل از بررسی اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر MDA کل گیاه کاملینا: مالون دی‌آلدئید یک فراورده از پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع‌نشده در فسفولیپیدها است. از میزان پراکسیداسیون لیپید برای بررسی میزان رادیکال آزاد مضر تولید شده تحت شرایط تنش استفاده می‌شود؛ بنابراین MDA به عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشاء در شرایط تنش بکار گرفته می‌شود شوری با ایجاد تنش اسمزی و یونی سبب تشکیل گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن می‌شود. مطالعات

مختلف حاکی از ارتباط مستقیم بین تجمع MDA با آب‌اکسیژنه است، به‌نحوی‌که با افزایش غلظت آب اکسیژنه میزان تجمع MDA نیز به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (Saravi et al., 2022). در این بررسی در پی افزایش سطوح شوری میزان MDA در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کرده است و در اثر اعمال تیمارهای کیتوزان و آهن بهبود تنش را سبب شده و میزان MDA را کاهش داده است. کاهش میزان MDA را تیمار همزمان آهن و کیتوزان در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر ثبت کرده است. در این بررسی بعضی از تیمارهای آهن و کیتوزان سبب افزایش MDA در مقایسه با شاهد و شرایط تنش شده است که این امر می‌تواند به دلیل تنش‌زا بودن غلظت‌های بالای تیمارها باشد، همچنین مطالعه حق‌پناه و همکاران (۱۴۰۳) در اثر تنش شوری و خشکی بر تولید فزاینده MDA همراه با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ ناشی از تنش شوری و خشکی در کنگد ثبت شده است (حق‌پناه و همکاران، ۱۴۰۳). به نظر می‌رسد تیمار همزمان کیتوزان و آهن نیز توانسته با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از میزان رادیکال‌های آزاد بکاهد. سرآبادانی گزارش کرد که با افزودن نانو ذرات اکسید آهن به هر یک از سطوح شوری، پراکسیداسیون لیپید کاهش یافته است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که اعمال تیمار آهن و کیتوزان موجب کاهش پراکسیداسیون غشاء و بهبود شرایط تنش می‌شود (سرآبادانی، ۱۳۹۵).

نتایج حاصل از بررسی اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آب اکسیژنه گیاه کاملینا: آسکوربات پراکسیداز: تنش شوری باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر شد و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش فعالیت این آنزیم شد. در این بررسی مشخص شد که در شوری ملایم، تیمار آهن ۳، کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر موجب افزایش و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم

بر لیتر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داده است. در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اعمال تیمارهای آهن ۳ و کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر و تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) گرم بر لیتر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را افزایش داده این در حالی است که اعمال تیمارهای آهن ۶ گرم بر لیتر و تیمارهای همزمان (آهن ۳، کیتوزان ۰/۴) ۴۳٪ و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را کاهش داده است. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر سایر آنزیم‌ها قرار می‌گیرد، به‌عنوان مثال Arora و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده کردند که با کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافته است. محققان متوجه شدند که الیسیتور کیتوزان سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز می‌شود و برهمکنش آن‌ها بر کاهش تنش شوری و حذف ROSها مؤثر است (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲). لازم به ذکر است که این افزایش و کاهش‌ها می‌تواند به سبب القای مسیرهای آنتی‌اکسیدانی متفاوت باشد. در این پژوهش افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز موجب بهبود شرایط تنش شده و نیاز کمتری به فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بوده است. از طرفی عنصر آهن هم در بهبود تنش شوری اثر بسزایی بر گیاه می‌گذارد، اهمیت عنصر آهن از این نظر است که این عنصر در ساختار فتوسیستم ۱ و ۲ و سیتوکروم‌های زنجیره انتقال الکترون و فرودوکسین و در ساختار بسیاری از پروتئین‌ها و آنزیم‌ها حضور دارند و در متابولیسم‌ها و فرایندهای بیولوژیکی اساسی مانند سنتز کلروفیل، فتوستتیز، تثبیت نیتروژن، تنفس، مکانیسم‌های جذب و سنتز DNA نقش دارند (Rout et al., 2014).

گایاکول پراکسیداز: در این مطالعه، تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز شد ولی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تفاوتی با شاهد نداشته است. این افزایش و کاهش می‌تواند به سبب تحریک و القای مسیرهای آنتی‌اکسیدانی متفاوتی همچون کاتالاز و مسیر فنیل پروپانوئیدی به وجود آید. همچنین به

کاهش میزان H_2O_2 در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تحت تأثیر تیمارهای کیتوزان و آهن می‌توان اشاره کرد، از این رو کاهش H_2O_2 در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر تحت تأثیر تیمارهای آهن و کیتوزان باعث شده مقدار فعالیت گایاکول پراکسیداز با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته باشد. اعمال تیمارهای آهن و کیتوزان در تمامی شرایط تنش و غیر تنش موجب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت پراکسیداز در مقایسه با شرایط تنش شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس شده است که این امر می‌تواند به استفاده از آنزیم پراکسیداز در جهت بهبود شرایط تنش اشاره کند. به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه کاملینا به دلیل اثر تحریک‌کنندگی کیتوزان و آهن بر ژن‌های درگیر در بیوستتیز آنزیم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد که نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد که با اثر کیتوزان در گیاه برنج مطابقت دارد (سعادت و همکاران، ۱۴۰۲).

نتایج حاصل از بررسی اثر تنش شوری و تیمارهای آهن و کیتوزان و اثر متقابل آن‌ها بر محتوای آنتوسیانین و فنیل آلانین آمونیاکاز گیاه کاملینا: آنتوسیانین‌ها یک گروه از متابولیت‌های ثانویه و از رنگ‌دانه‌های محلول در آب هستند و گروه بزرگی از رنگ‌دانه‌ها را شامل می‌شوند که در تمام بافت‌های گیاهی یافت می‌شوند. آنتوسیانین‌ها متداول‌ترین گروه رنگزهای فلاونوئیدها هستند که مسئول بیشتر رنگ‌های قرمز، صورتی، بنفش و آبی در بافت‌های گیاه هستند (نورمحمدی و همکاران، ۱۴۰۰). فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌های موجود در برگ به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد فعالیت می‌کنند و گیاهان را در برابر تنش‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. آنتوسیانین‌ها همچنین می‌توانند از سیستم فتوستتیزی در برابر فتواکسیداسیون محافظت کنند و این قابلیت در گیاهان در معرض تنش مشاهده می‌شود (Moustaka et al., 2020). در این پژوهش بررسی نتایج نشان می‌دهد که همراه با افزایش غلظت شوری مقدار آنتوسیانین نیز نسبت به گیاهان شاهد افزایش پیدا کرده است. همچنین افزایش غلظت آنتوسیانین در گیاه کینوا تحت تنش شوری مشاهده شده است (جعفری و

Moradbeygi و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد، آنزیم PAL یک آنزیمی است که در شرایط تنش برای بهبود شرایط تنش و تأثیر بر میزان تولید ترکیبات دفاعی فلاونوئیدی و آنتوسیانینی تحت تأثیر ژنتیکی قرار گرفته و افزایش پیدا می‌کند سنتز آنتوسیانین از یک سو با تولید و ساخت آنزیم PAL در ارتباط است. برخی افزایش‌ها و کاهش‌ها در سنتز آنتوسیانین با آنزیم PAL هماهنگی ندارد، این بدان منظور است که در تیمارهای اعمال شده علاوه بر PAL آنزیم‌های دیگر مسیر سنتز آنتوسیانین نیز تحت تأثیر بوده است؛ که تا کنون گزارشی در این زمینه ارائه نشده است.

نتیجه‌گیری

بررسی تنش شوری و کیتوزان نشان داد که گیاه کاملینا نسبت به شوری تا حدودی متحمل بوده و در بعضی موارد تا شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر (معادل دو برابر غلظت خاک شور) شوری را تحمل کرده است. فعالیت آنزیم PAL و پراکسیداز در پی اعمال غلظت‌های کیتوزان و آهن در جهت بهبود شرایط تنش در مقایسه با شاهد افزایش داشته‌اند، از طرفی میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با نمونه شاهد در پی اعمال تیمارهای آهن و کیتوزان کاهش داشته است که این نیز در پی افزایش فعالیت سایر آنتی‌اکسیدان‌ها توجیه می‌شود. برهمکنش تنش شوری همراه با تیمارهای آهن و کیتوزان سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون پراکسیداز گردید و از این طریق نیاز به فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و PAL کاهش یافته است از طرفی به نظر می‌رسد کیتوزان و آهن در شرایط شوری کمک شایانی به گیاه کاملینا در زمینه مقاومت به تنش و کاهش ROSها کردند. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که با توجه به گسترش شوری در مزارع، می‌توان از کیتوزان به عنوان یک پلیمر زیستی بی‌خطر و آهن به صورت کلات‌شده برای افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری استفاده کرد. از طرفی گیاه کاملینا حاوی اسیدهای چرب امگا ۳ و ویتامین E بالا است و ارزش غذایی بالایی دارد که می‌تواند به عنوان یک گیاه ارزشمند در مناطق شور مورد توجه قرار گیرد.

همکاران، ۱۴۰۰) که علت آن را افزایش سنتز آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی از جمله پال دانست که با نتایج کنونی ما مطابقت دارد. در شرایط تنش در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر کمترین میزان آنتوسیانین را تیمار کیتوزان ۰/۴ گرم بر لیتر به خود اختصاص داده و در شوری ۱۲ تیمار همزمان (آهن ۶، کیتوزان ۰/۲) و (آهن ۶، کیتوزان ۰/۴) گرم بر لیتر که باعث افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین که با افزایش و کاهش آنزیم پال هماهنگی دارد. استفاده از آهن بر گیاه بالنگو در شرایط شوری موجب کاهش آنتوسیانین شده است که با یافته‌های مقاله ما نیز همسو است (سرآبادانی، ۱۳۹۵). بعضی از پژوهشگران علت کاهش ترکیبات فنلی از جمله آنتوسیانین را در این می‌دانند که تنش‌های شدید شوری قادرند اثرات منفی بر آنتی‌اکسیدان‌های گیاهان بگذارد و باعث کاهش ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شود (Hagen et al., 2009). پژوهشگران نشان داد که آنزیم پراکسیداز در حضور H₂O₂ و گایاکول قادر به تجزیه و کاهش آنتوسیانین می‌باشد و این گفته با تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز و میزان آنتوسیانین در پژوهش حاضر همسو است (Eryılmaz, 2006).

فنیل‌آلانین آمونیاک‌لیاز: تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیاک‌لیاز در گیاه کاملینا شد. فعالیت آنزیم پال در پاسخ به مولکول‌های سیگنالی همچون اتیلن، یون Ca²⁺ و ROS که در پی تنش به وجود آمده‌اند، افزایش می‌یابد (جعفری و همکاران، ۱۴۰۰). یکی از راه‌های مقابله گیاهان با شرایط تنش تجمع ترکیبات فنیل پروپانوییدی همچون فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها است، این ترکیبات نقش حفاظتی دارند و گیاه را در مقابل آسیب‌های ناشی از ROS و مرگ سلول محافظت می‌کند. آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها از طریق مسیر فنیل پروپانوییدی سنتز می‌شوند و آنزیم PAL یک آنزیم مهم در این فرایند است و نقش کنترلی بر روی سنتز متابولیک‌های ثانویه دارد (Chavoushi et al., 2020). پس می‌توان گفت که تجمع یا افزایش ترکیبات دفاعی مانند آنتوسیانین و فلاونوئیدها تحت تأثیر افزایش فعالیت آنزیم PAL در شرایط تنش اتفاق می‌افتد. همان‌طور که پژوهش

منابع

- اصل محمدی، محمدخانی، و ثروتی، مسلم (۱۴۰۰). اثر محلول پاشی آهن و روی بر برخی صفات بیوشیمیایی گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت کمبود نیتروژن. مجله پژوهش های گیاهی، ۳۴ (۳)، ۵۷۶-۵۹۳.
- بهبودی، فریده، طهماسبی سروسستانی، زین العابدین، زمان کسایی، محمد، مدرس ثانوی، علی محمد، و سروش زاده، علی (۱۳۹۸). اثر محلول پاشی و خاک کاربرد نانو ذرات کیتوزان بر کلروفیل، فتوستت، عملکرد و اجزای عملکرد گندم (*Triticum aestivum*) تحت تنش خشکی پس از گرده افشانی. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱ (۲۹)، ۲۷۱-۲۸۶.
DOR:20.1001.1.23222727.1398.8.30.8.2
- سعادت، هانیه، سلطانی، الیاس، و صدق، محمد (۱۴۰۲). تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی های جوانه زنی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهچه های برنج (*Oryza sativa*) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۲ (۵۴)، ۲۳۹-۲۵۸.
DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.54.15.5
- جعفری، طاهره، ایران بخش، علیرضا، کمالی علی آباد، کاظم، دانشمند، فاطمه، و سیفتی، سید ابراهیم (۱۴۰۰). تأثیر سطوح تنش شوری بر برخی پارامترهای رشد، غلظت یون های معدنی، اسمولیت ها، آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی و فعالیت آنزیم فینیل آلانین آمونیلایز در سه ژنوتیپ کینوا (*Chenopodium quinoa* Willd). تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی، ۱۲ (۴۵)، ۶۳-۸۷.
DOR: 20.1001.1.22285458.1400.12.45.3.2
- حق پناه، مصطفی، بخشنده، اسماعیل، و هاشمی پطرودی، حمیدرضا (۱۴۰۳). مطالعه اثر تنش های شوری و اسمزی بر واکنش های بیوشیمیایی گیاه کنگد و ارزیابی بیوانفورماتیک خانواده ژنی SOD. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۳۱ (۶)، ۳۹-۵۷.
<https://doi.org/10.22034/13.60.39>
- حیدری، وجهه، احمدی لاهیجانی، محمدجواد، نباتی، جعفر، و نظامی، احمد (۱۴۰۲). مطالعه ویژگی های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی عدس در شرایط تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۲ (۵۶)، ۸۹-۱۰۸.
DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.56.7.1
- خسروی، الهه، سلیمی، اعظم، چاوشی، مریم، و زیدی، هانیه (۱۴۰۱). نقش کیتوزان بر کاهش اثرات تنش شوری از طریق آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.). مجله پژوهش های گیاهی ایران، ۳۵ (۴)، ۷۸۶-۷۹۸.
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.6.6
- ریاحی نیا، شهرام، و دانایی پور، زهرا (۱۴۰۱). بررسی تأثیر تیمار نانو کود آهن و کلات آهن در دو مرحله زیستی گیاه سالیکورنیا تحت تنش شوری. مجله پژوهش های گیاهی ایران، ۳۵ (۱)، ۱۱۵-۱۳۵.
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.1.11.5
- سرآبادانی، بتول (۱۳۹۵). بررسی اثر محلول پاشی نانو ذرات اکسید آهن بر رشد و فیزیولوژی گیاه بالنگو (*Lallemantia royleana* Benth.) تحت تنش شوری. دانشکده علوم، دانشگاه اراک.
- فانی، ابراهیم، و حاجی هاشمی، شکوفه (۱۴۰۲). بررسی اثر محلول پاشی سیلیس و تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه روغنی کاملینا (*Camelina sativa*). فیزیولوژی محیطی گیاهی، ۴۹ (۱)، ۱۵۹-۱۰۹.
Doi:10.30495/iper.2022.1954207.1780
- قمرنیا، هوشنگ (۱۳۹۸). کاملینا: گیاهی کم توقع و سازگار، انتشارات دانشگاه رازی، کرمانشاه.
- نورمحمدی، زهرا، اسماعیل پور، بهروز، آذرمی، رسول، شیخ علیپور، مرتضی، چمنی، اسماعیل، و شهبازی یاجلو، رقیه (۱۴۰۰). بررسی اثر ملاتونین بر خصوصیات رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری. علوم سبزی ها، ۵ (۹)، ۱۷-۱.
SID. <https://sid.ir/paper/967246/fa>

همایی، مهدی، بایرام، منصوره، و مختصی، علی (۱۴۰۰). ارزیابی کمی پاسخ گیاه کاملینا (*Camelina sativa* L.) به تنش شوری در مراحل آغازین رشد. تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۲ (۱۲).

- Abdolmaleki, P., Ghanati, F., Sahebamei, H., & Sarvestani, A. S. (2007). Peroxidase activity, lignification and promotion of cell death in tobacco cells exposed to static magnetic field. *The Environmentalist*, 27, 435-440. <https://doi.org/10.1007/s10669-007-9080-1>
- Al-Amri, N., Tombuloglu, H., Slimani, Y., Akhtar, S., Barghouthi, M., Almessiere, M., Alshammari, T., Baykal, A., Sabit, H., & Ercan, I. (2020). Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 194, 110377. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110377-110388>
- Alkharabsheh, H. M., Seleiman, M. F., Hewedy, O. A., Battaglia, M. L., Jalal, R. S., Alhammad, B. A., Schillaci, C., Ali, N., & Al-Doss, A. (2021). Field crop responses and management strategies to mitigate soil salinity in modern agriculture: A review. *Agronomy*, 11(11), 2299-2321. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112299>
- Amako, K., Chen, G. X., & Asada, K. (1994). Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. *Plant and Cell Physiology*, 35(3), 497-504. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078621>
- Aroora, A., Sairam, R., & Srivastava, G. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 1227-1238. <https://www.jstor.org/stable/24107045>
- Chavoushi, M., Najafi, F., Salimi, A., & Angaji, S. A. (2020). Effect of salicylic acid and sodium nitroprusside on growth parameters, photosynthetic pigments and secondary metabolites of safflower under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 259, 108823-108829. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.10882>
- D'Cunha, G. B., Satyanarayan, V., & Nair, P. M. (1996). Stabilization of phenylalanine ammonia lyase containing *Rhodotorula glutinis* cells for the continuous synthesis of L-phenylalanine methyl ester/96. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 421-427. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00013-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00013-0)
- De Vos, C. & Schat, H. (1991). Ecological Responses to Environmental Stresses. Springer.
- Eryılmaz, F. (2006). The relationships between salt stress and anthocyanin content in higher plants. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 20(1), 47-52. <https://doi.org/10.1080/13102818.2006.10817303>
- FAO. (2019). FAO STAT Agricultural Statistic. Available online at: <http://www.Fao.Org>.
- Gao, S., Yan, R., Cao, M., Yang, W., Wang, S., & Chen, F. (2008). Effects of copper on growth, antioxidant enzymes and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedling. *Plant Soil Environment*, 54(3), 117-122.
- Ghidoli, M., Geuna, F., De Benedetti, S., Frazzini, S., Landoni, M., Cassani, E., Scarafoni, A., Rossi, L., & Pilu, S. R. (2024). Genetic study of *Camelina sativa* oilseed crop and selection of a new variety by the bulk method. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1385332-1385345. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1385332>
- Hagen, S. F., Borge, G. I. A., Solhaug, K. A., & Bengtsson, G. B. (2009). Effect of cold storage and harvest date on bioactive compounds in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. acephala). *Postharvest Biology and Technology*, 51(1), 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.04.001>
- Kapilan, R., Vaziri, M., & Zwiazek, J. J. (2018). Regulation of aquaporins in plants under stress. *Biological Research*, 51, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0152-0>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Masukasu, H., Karin, O., & Kyoto, H. (2003). Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. *Plant Science*, 164(2), 259-265. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00408-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00408-9)
- Moradbeygi, H., Jamei, R., Heidari, R., & Darvishzadeh, R. (2020). Fe₂O₃ nanoparticles induced biochemical responses and expression of genes involved in rosmarinic acid biosynthesis pathway in *Moldavian balm* under salinity stress. *Physiologia Plantarum*, 169(4), 555-570. <https://doi.org/10.1111/ppl.13077>
- Moustaka, J., Tanou, G., Giannakoula, A., Adamakis, I. D. S., Panteris, E., Eleftheriou, E. P., & Moustakas, M. (2020). Anthocyanin accumulation in poinsettia leaves and its functional role in photo-oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany*, 175, 104065-104078. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104065>
- Mozafari, H., Hejabi, M., Salari, H., & Oloumi, H. (2023). Effect of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth improvement and tolerance to salinity stress in tomato plants. *Journal of Ethno-Pharmaceutical Products*, 3(1), 31-45.
- Navarro-Torre, S., Garcia-Caparros, P., Nogales, A., Abreu, M. M., Santos, E., Cortinhas, A. L., & Caperta, A. D. (2023). Sustainable agricultural management of saline soils in arid and semi-arid Mediterranean regions through

- halophytes, microbial and soil-based technologies. *Environmental and Experimental Botany*, 212, 105397-105417. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105397>
- Rout, G., Sunita Sahoo, S. S., Das, A., & Das, S. (2014). Screening of iron toxicity in rice genotypes on the basis of morphological, physiological and biochemical analysis. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1-24. DOI:10.7831/ras.3.1
- Saravi, H. B., Gholami, A., Pirdashti, H., Firouzabadi, M. B., Asghari, H., & Yaghoubian, Y. (2022). Improvement of salt tolerance in *Stevia rebaudiana* by co-application of endophytic fungi and exogenous spermidine. *Industrial Crops and Products*, 177, 114443. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114443>
- Sharif, R., Mujtaba, M., Ur Rahman, M., Shalmani, A., Ahmad, H., Anwar, T., Tianchan, D., & Wang, X. (2018). The multifunctional role of chitosan in horticultural crops; A review. *Molecules*, 23(4), 872-892. <https://doi.org/10.3390/molecules23040872>
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)
- Wang, Y., Ma, W., Fu, H., Li, L., Ruan, X., & Zhang, X. (2023). Effects of salinity stress on growth and physiological parameters and related gene expression in different ecotypes of *Sesuvium portulacastrum* on Hainan Island. *Genes*, 14(7), 1336-1258. <https://doi.org/10.3390/genes14071336>

The effect of salinity stress and some improvers on the antioxidant content of Camelina plant (*Camelina sativa* (L.) Crantz)

Ali Abbasi¹, Azam Salimi*¹, Maryam Chavoushi¹, Najimeh Rastindel¹, and Hanieh zeidi²

¹ Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran

² Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2024/05/28, Accepted: 2024/08/06)

Abstract

Camelina (*Camelina sativa*) is a flowering plant from the Brassicaceae family. This cold-resistant plant has high nutritional value and is a multipurpose plant. Salinity stress is a growing problem in the agricultural lands of Iran and the world, which reduces the growth and development of plants. How this plant reacts to salinity stress and how to improve its resistance have been considered in this category. Various improvers have been recommended to increase resistance to stress. In this research, chitosan and iron, together with salt, have been applied to *Camelina*. Chitosan is one of the compounds that stimulates the plant's immune system to protect against stress factors, and the iron element plays an important role in the structure of cytochromes, photosynthesis and respiration by fixing N₂. In order to implement this research, this experiment was carried out based on a randomized block design with three replications at Kharazmy University in 1402. In the present research, we investigated the salinity levels of 0, 8, 12 ds/m, equivalent to 0, 5.12, and 7.6 g/L of NaCl, and chitosan treatment with concentrations of 0, 0.2, and 0.4 g/L, and iron was also investigated with concentrations of 0, 3, and 6 g/l and the interaction of their different concentrations to improve growth. Following salt stress, different enzymatic antioxidants showed different reactions. The activity of the ascorbate peroxidase enzyme increased after the increase in salinity stress, and compared to the control, the activity of the peroxidase enzyme increased in the beginning compared to the control and did not record many changes, and the activity of the enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) increased with increased salinity stress compared to the control. In the combined study of the effect of chitosan elicitor and iron element on salinity stress, it was observed that chitosan elicitor improved the stress conditions by increasing the activity of peroxidase enzyme, photosynthesis pigments, shoot fresh weight, and decreasing MDA and H₂O₂, the activity of ascorbate peroxidase enzyme and anthocyanin did not change much and this indicates that the effect of elicitor and iron element on salinity stress has improved.

Keywords: Ascorbate peroxidase, *Camelina*, Chitosan, Iron, Phenylalanine ammonia-lyase, Salt

Corresponding author, Email: salimi@khu.ac.ir