

مقاله پژوهشی

تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa*) تحت تنش شوری

هانیه سعادت^۱، الیاس سلطانی^{۲*} و محمد صدقی^۳^۱ دانشجوی دکتری اکولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران^۲ گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشکده‌گان ابوریحان - دانشگاه تهران، پاکدشت، تهران، ایران^۳ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۹/۰۱)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های برنج تحت شرایط تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تیمارها شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و چهار سطح کیتوزان (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد وزنی-حجمی) بود که همه در اسید استیک یک درصد حل شده بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقچه و گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقچه، شاخص طولی و وزنی بنیه بذر گردید. ولی، پرایمینگ بذر با کیتوزان سبب کاهش تأثیر شوری و بهبود این صفات گردید. البته، مقایسه میانگین‌ها نشان‌دهنده آن بود که بین سطوح کیتوزان اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به نحوی که بیش‌ترین مقدار صفات از کاربرد کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین آن از عدم کاربرد کیتوزان حاصل گردید. شوری میانگین مدت جوانه‌زنی افزایش داد، به طوری که بیش‌ترین آن (۰/۳۶۷ روز) از شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد (۰/۱۰۱ روز) مشاهده شد. و بیش‌ترین ضریب آلومتری (۰/۴۵۲) در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۲۵ درصد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسمیوتاز در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب ۴۰، ۳۵ و ۳۱ درصد نسبت به شاهد (آب مقطر) و بدون شوری بیش‌تر بود. هم‌چنین، شوری فعالیت آنزیم آمیلاز را کاهش داد. به طوری که، کم‌ترین آمیلاز ($6/400 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$) در شاهد (آب مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به دست آمد. نتایج نشان داد تیمار بذر با کیتوزان ۰/۷۵ درصد با تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌تواند اثرات مضر تنش شوری بر برخی صفات در گیاهچه برنج را کاهش داده و رشد گیاهچه را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: برنج، پرایمینگ، کلرید سدیم، کیتوزان، هیدروپرایمینگ

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از خانواده گرامینه بوده و مهم‌ترین

غله در سراسر دنیا به ویژه در آسیا محسوب می‌شود و در حال

در تعادل و جذب مواد غذایی، اختلال در متابولیسم اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها و کاهش سطح انرژی سلولی اشاره کرد (Toscano *et al.*, 2019). تنش شوری گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش می‌دهد (Liu *et al.*, 2021). شوری از طریق افزایش فشار اسمزی، سمیت یونی سلول‌های گیاه به ویژه یون‌های سدیم و کلر، تنش اکسیداتیو و اختلال در نظام تغذیه‌ای گیاه موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (Arzani and Ashraf, 2016). پرایمینگ، نوعی از آماده‌سازی بذر است که مورد توجه بسیاری از کشاورزان برای استقرار و رشد بهتر پایه‌های محصول حتی در شرایط نامساعد محیطی قرار گرفته است (Bose *et al.*, 2018).

پرایمینگ بذر یکی از روش‌های مؤثر برای کاهش و تعدیل خسارت ناشی از تنش شوری است. پرایمینگ متابولیسم قبل از جوانه‌زنی را فعال می‌کند که شامل طیف وسیعی از عملکرد فیزیولوژیکی است که مسیرهای ترمیم DNA و سیستم‌های اصلاح ROS را فعال می‌کند و به حفظ یکپارچگی ژنوم کمک می‌کند (Paparella *et al.*, 2015; Becerra-Vazquez *et al.*, 2020). پرایمینگ بذر سنتز و فعال شدن اولیه آنزیم‌های هیدرولتیک از جمله آلفا و بتا آمیلاز را نیز تحریک می‌کند. این آنزیم‌ها با اکسیداسیون مواد غذایی ذخیره‌ای بذر انرژی مورد نیاز برای جوانه‌زنی و ظهور گیاهیچه را تأمین می‌نمایند (Varier *et al.*, 2010). پرایمینگ درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقچه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقچه، ضریب آلومتری، شاخص بنیه طولی و وزنی بذور را تحت تنش شوری افزایش می‌دهد (غفاری و تدین، ۱۳۹۸؛ کبیری و همکاران، ۱۴۰۰). پرایمینگ باعث تعدیل تنش شوری در بادرنجبوریه شده است (دهجی‌پور حیدرآبادی و همکاران، ۱۴۰۰).

کیتوزان پلیمری است که توسط قارچ‌ها، حشرات و سخت پوستان تولید می‌شود، تأثیرات مثبتی بر رشد و بهره‌وری بسیاری از گیاهان دارد و هم‌چنین دارای فعالیت‌های ضد میکروبی است (Malerba and Cerana, 2016). کیتوزان به دلیل خواص تشکیل فیلم و خواص کاربردی نظیر خاصیت

حاضر یک سوم از منابع کربوهیدراتی لازم را فراهم نموده و رتبه سوم از نظر سطح زیرکشت در سطح جهانی به خود اختصاص داده است (Kibria *et al.*, 2017). شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌ها، به‌خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک است، که بر تمام جنبه‌های رشد و عملکرد گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Ashraf and Harris, 2004; Konuskan *et al.*, 2017) و محدوده توزیع و پراکندگی گیاهان را در اکوسیستم‌های مختلف تعیین می‌نماید (Ismail and Horie, 2017). نیمی از اراضی قابل کشت ایران متأثر از شوری است که اثر عمده‌ای در کاهش سطح زیرکشت و عملکرد محصولات زراعی دارند (El-Bassiouny *et al.*, 2019; Nabiollahi *et al.*, 2017). در حال حاضر تنش شوری ناشی از فعالیت‌های انسانی از جمله کوددهی طولانی مدت و آبیاری با آب شوری در حال افزایش است (Feghhenabi *et al.*, 2020). سمیت ناشی از یون‌های سدیم و کلر باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تنش شوری می‌شود (مرادی و سید شریفی، ۱۳۹۹).

برنج از جمله غلات مهم و تا حدودی حساس به تنش شوری در مرحله گیاهیچه‌ای و اوایل مرحله زایشی است (Mekawy *et al.*, 2015). تحقیقات نشان داده است، سطوح مختلف شوری درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقچه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقچه، شاخص طولی و وزنی بنیه گیاهیچه کاهش و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز را افزایش داد (احمدی و همکاران، ۱۴۰۰؛ کبیری و همکاران، ۱۴۰۰). افزایش سطوح تنش شوری از طریق تجمع انواع گونه‌های اکسیژن فعال در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی در بذر گیاه لوبیا، تأثیر منفی گذاشته و در نهایت موجب افت شاخص‌های جوانه‌زنی می‌گردد (قنبری و همکاران، ۱۳۹۸). افزایش فعالیت آنزیم‌های جذب‌کننده انواع اکسیژن فعال یکی از متداول‌ترین مکانیسم‌های تحمل به شوری است (شکرپور و اسفندیاری، ۱۳۹۳). شوری در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه اختلال ایجاد می‌نماید که می‌توان به کاهش رشد به دلیل اختلال

بر مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش در گیاه گلرنگ، و برنج نیز گزارش شده است (Abdalla, 2011; Liu et al., 2012). نانو ذرات کیتوزان- سلنیوم باعث تحمل گیاه خربزه به تنش شوری از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تنش اکسیداتیو می‌شود (Sheikhalipour et al., 2021).

هدف از انجام این تحقیق، بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در واکنش به تنش شوری و نقش پرایمینگ بذر با کیتوزان در رفتار جوانه‌زنی برنج بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه تأثیر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر ویژگی‌های جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.) در شرایط تنش شوری آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۴۰۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل چهار سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) و چهار سطح کیتوزان صفر (آب‌مقطر)، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی) بود که همه در اسید استیک یک درصد حل شده بودند. برای تهیه محلول‌های کیتوزان از پودر کیتوزان با وزن مولکولی پایین از شرکت سیگما آلدریج آلمان استفاده شد. ابتدا بذرها درون محلول‌های پرایمینگ آب‌مقطر به مدت ۸ ساعت غوطه‌ور شدند. پس از اعمال پرایمینگ، تعداد ۵۰ بذر درون هر پتری جهت کشت قرار گرفت (ISTA, 2012). و به هر پتری محلول شوری (کلرید سدیم) ۱۰ میلی‌لیتر با سطوح مختلف (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) اضافه شد و سپس، به داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

شمارش بذره‌های جوانه‌زده به صورت روزانه و به مدت هفت روز انجام گردید (ISTA, 2012). و بذوری جوانه‌زده تلقی شدند که ریشه‌چه آن‌ها به میزان حداقل ۲ میلی‌متر از

میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و غیرقابل نفوذ بودن در برابر اکسیژن قابلیت استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی به عنوان پوشش و فیلم خوراکی را دارا است (Fan et al., 2009). گزارش شده است کیتوزان به دلیل تأثیر بر بیان ژن‌های گیاهی قادر است به برخی عوامل نامساعد محیطی، مقاومت ایجاد کند. (Demirevska et al., 2009). پرایمینگ با کیتوزان تحت تنش شوری باعث تحریک جوانه‌زنی و در نتیجه بهبود جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی می‌شود (Sen and Mandal, 2016; Ruan and Xu, 2002; Zayed et al., 2017; Choudhary et al., 2017). در پژوهش عقیقی شاهرودی و همکاران (۱۳۹۵) نتایج نشان داد که سطح کیتوزان ۰/۵ درصد تأثیر مثبتی بر افزایش شاخص بینه گیاهچه ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) دارد. اثر مثبت کیتوزان بر جوانه‌زنی و رشد جوانه‌های گیاهان زیادی از جمله گندم، لوبیا و برنج تحت تنش نیز گزارش شده است (Wei et al., 2007; Haghghi et al., 2012; Farouk et al., 2013; Boonlertnirun et al., 2006). فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان مورد توجه زیادی قرار گرفته است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله‌کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آیند (Kaur et al., 2014). وقتی گیاهان در معرض تنش قرار می‌گیرند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آن‌ها افزایش می‌یابد. بهبود رشد گیاهان در محیط‌های تنش‌زا می‌تواند به دلیل نقش مهم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثر مخرب تنش‌های اکسیداتیو باشد (Kheirizadeh Arough et al., 2016). کیتوزان در گیاهان دارویی با بیان ژن‌ها در مسیر بیوسنتزی منجر به افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Suchada et al., 2010). تحقیقات نشان داده است که اثر متقابل پرایمینگ و شوری روی درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقچه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار بود (Ghalavand et al., 2022). نتایج حاصل از مطالعات نشان داد که پرایمینگ با کیتوزان باعث افزایش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه ذرت تحت تنش خشکی گردید (Behboudi et al., 2018). اثر تحریک‌کنندگی کیتوزان

رابطه ۵: شاخص طولی بنیه بذر $SLVI = SL (mm) - GP$
 رابطه ۶: شاخص وزنی بنیه بذر $SWVI = SDW (gr) - GP$
 N: تعداد بذر جوانه زده، M: تعداد کل بذور، Si: تعداد
 بذور جوانه زده در هر روز، Di: تعداد روز تا شمارش نام و N
 تعداد دفعات شمارش، Ni: تعداد بذر جوانه زده در روز Di، LS:
 طول ساقه چه، LR: طول ریشه چه، GP: درصد جوانه زنی، SL:
 طول گیاهچه، SDW: وزن خشک گیاهچه (گرم).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم
 کاتالاز براساس روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه گیری شد. کمپلکس
 واکنش، شامل ۰/۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۷/۵ میلی مولار،
 ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷) و ۵۰
 میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود که حجم نمونه ها با اضافه کردن
 آب مقطر به ۳ میلی لیتر رسانده شد. با افزودن پراکسید هیدروژن
 واکنش آغاز گردید و کاهش در جذب نمونه ها در طول موج
 ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. محلول جذب
 زمینه (blank) شامل تمام موارد استفاده شده بجز عصاره
 آنزیمی استخراج شده بود. فعالیت ویژه آنزیم براساس
 میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه بر میلی گرم
 پروتئین بیان گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX): سنجش فعالیت
 آنزیم POX طبق روش MacAdam و همکاران (۱۹۹۲) انجام
 شد. در این روش ۴۵۰ میکرو لیتر محلول پراکسید هیدروژن و
 ۴۵۰ میکرو لیتر محلول گایاکول در دمای پایین (ظرف حاوی
 یخ) با هم مخلوط گردید و به آن ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره
 آنزیمی اضافه شد و تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر
 با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر دنبال شد. در محلول بلانک
 به جای عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرو لیتر از بافر فسفات (pH=۷)
 استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون لامبرت-بیر و
 ضریب خاموشی محصول واکنش گایاکول پراکسیداز
 $(13/3 \mu M^{-1}c^{-1}m)$ محاسبه شد. فعالیت آنزیم در نهایت
 بر حسب Unit mg^{-1} protein بیان گردید.

$$(Unit\ mg^{-1}) = \frac{POX/min}{13.3}$$

پوسته خارج شده باشد. برای خشک کردن گیاهچه ها از آون
 استفاده شد. به این صورت که نمونه ها در آون با دمای ۷۲
 درجه سانتی گراد قرار گرفتند. برای اندازه گیری طول ریشه چه،
 ساقه چه و گیاهچه از خط کش با واحد میلی متر استفاده شد.
 همچنین برای اندازه گیری وزن تر و خشک ریشه چه و
 ساقه چه از ترازو با دقت یک هزارم استفاده شد. برای محاسبه
 درصد جوانه زنی از رابطه ۱ (امیدی و همکاران، ۱۳۹۳)،
 سرعت جوانه زنی رابطه ۲ (Ellis and Roberts, 1980)،
 میانگین مدت جوانه زنی رابطه ۳ (امیدی و همکاران، ۱۳۹۳)،
 ضریب آلومتری رابطه ۴ (Scott et al., 1984) و شاخص وزنی
 و طولی بنیه بذر رابطه ۵ و ۶ (ابراهیمی و همکاران، ۱۳۹۱)
 استفاده شد.

به منظور تعیین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در برنج،
 گیاهچه ها در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در
 پتری رشد داده شدند و پس از باز شدن برگ های اولیه از هر
 تیمار چند گیاهچه به تصادف انتخاب و پس از قرار دادن در
 فویل آلومینیومی، تا زمان استخراج عصاره آنزیمی به فریزر با
 دمای 2 ± -70 درجه سلسیوس منتقل گردیدند. جهت استخراج
 عصاره آنزیمی، ۰/۵ گرم نمونه از هر تیمار توزین و در داخلی
 هاون چینی (که از قبل در یخچال نگهداری شده بود) با
 استفاده از نیتروژن مایع هموزن گردید و پس از آن ۵ میلی لیتر
 از بافر فسفات سرد (pH=۷) حاوی ۰/۵ میلی مولار EDTA به
 هاون اضافه شد. سپس، هموزن ها به اپندورف های ۲ میلی متری
 منتقل شدند و در $15000\ rpm$ با دمای ۴ درجه سانتی گراد به
 مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. مرحله شناور رویی حاصل به
 سه قسمت تقسیم شد تا از اثر مضر انجماد و ذوب متوالی
 نمونه ها پیشگیری شود و سپس، تا زمان اندازه گیری آنزیم های
 آنتی اکسیدانت در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد
 (Sairam et al., 2002).

رابطه ۱: درصد جوانه زنی $GP = (N \times 100) / M$

رابطه ۲: سرعت جوانه زنی $GR = \sum_{i=1}^N Si / Di$

رابطه ۳: میانگین مدت جوانه زنی $MGT = \Sigma (Ni) / \Sigma N$

رابطه ۴: ضریب آلومتری $CA = LS/LR$

طبق جدول تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نتایج پژوهش نشان داد که اثر متقابل کیتوزان و شوری بر روی میانگین مدت جوانه‌زنی، ضریب آلومتری، طول ریشه‌چه و ساقچه، طول گیاهچه، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، شاخص طولی و وزنی بینه بذر، آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسمیوتاز، آمیلاز و اثر ساده بر روی سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و وزن خشک ساقچه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی: بیش‌ترین سرعت

جوانه‌زنی (۸/۰۵۸ بذر در روز) و درصد جوانه‌زنی (۸۹ درصد) از پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۳/۶۲۵ بذر در روز) و درصد جوانه‌زنی (۷۶/۴۱۷ درصد) در شاهد (آب‌مقطر) بود (شکل ۱a و ۲a). با افزایش شوری سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی کاهش یافتند. به‌طوری‌که، بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۶/۸۴۲ بذر در روز) و درصد جوانه‌زنی (۹۶/۲۵۰ درصد) در شوری صفر (شاهد) و کم‌ترین سرعت جوانه‌زنی (۴/۳۴۲ بذر در روز) و درصد جوانه‌زنی (۷۶/۴۱۷ درصد) در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۱b و ۲b).

دلیل کاهش سرعت جوانه‌زنی با افزایش غلظت کلرید سدیم می‌تواند ناشی از تنش خشکی فیزیولوژیک باشد. این تنش باعث کاهش کلیه شاخص‌های رشد به دلیل کاهش سرعت اولیه جذب آب می‌گردد (پیرسته انوشه و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین، افزایش یون‌های سدیم و کلر باعث کاهش جذب یون‌های اساسی، از جمله یون‌های پتاسیم، کلسیم، آمونیوم و نترات می‌شود و فعالیت آنزیم‌ها را کاهش داده و ساختار غشایی را مختل می‌کند (Demir Kaya et al., 2006). در این تحقیق، پرایمینگ با سطوح مختلف کیتوزان باعث افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی تحت تنش شوری شد. که این نتایج مطابق با سایر پژوهش‌ها است که نشان دادند پرایمینگ بذر با کیتوزان باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر آفتابگردان و ذرت در شرایط تنش شوری می‌گردد (بهبود و همکاران، ۱۳۹۹؛ Jabeen and Ahmad, 2009). علت بهبود

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسمیوتاز (SOD):

سنجش آنزیم ذکرشده به روش Giannopolitis و Ries (۱۹۷۷) انجام گردید. اساس سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مهار واکنش رادیکال سوپراکسید با نیترویلو تترازولیموم و ممانعت از تشکیل سوپراکسید- نیترویلو تترازولیموم توسط آنزیم مذکور است. نمونه بلانک به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار گرفت و نمونه‌های شاهد و عصاره آنزیمی در محفظه نوری با دو لامپ فلورسنت W ۲۰ به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۰۰ دور در دقیقه بر روی شیکر گذاشته شد. سپس، جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱۵ دقیقه و جذب عصاره آنزیمی در همان مدت زمان روشنایی در واقع نشان دهنده باز داشتن واکنش خود به خودی و تشکیل فورمازان توسط SOD است.

$$\text{Unit. mg}^{-1} = 100 - [\text{OD control} - \text{OD}] / \text{OD control} \times 100 / 50$$

سنجش فعالیت آلفا آمیلاز (Amylase): چهار روز پس از

جوانه‌زنی و مطابق روش Duman (۲۰۰۶) مشخص شد. بذرها در بافر فسفات ۶۰ میلی‌مولار (pH=۶/۸) هموژنیزه شدند و سپس با ساتریفوز ۱۲۰۰g و به مدت ۱۵ دقیقه فیلتر شدند. فعالیت آنزیم در محیط واکنش که حاوی ۶۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۶/۸)، ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر کلسیم کلراید و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشاسته بود، مشخص شد. عصاره آنزیم (یک میلی‌لیتر) پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در حمام آب گرم به محیط آزمایش اضافه شد. فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با استفاده از نشاسته و با طول موج ۶۲۰ نانومتر به صورت میکروگرم نشاسته و گرم بر دقیقه مواد تازه مشخص شد.

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گردید. برای ترسیم اشکال و نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel 2018 استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج در شرایط تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	میانگین مدت جوانه‌زنی	ضریب آلومتري	طول ریشه‌چه
کیتوزان	۳	۴۱/۴۳**	۸۹/۸**	۰/۰۵۳۷۴**	۰/۰۰۴۱۱**	۱۳۱۰/۱**
شوری	۳	۱۴/۱۹**	۸۶۰/۳**	۰/۰۲۲۴۶**	۰/۰۴۰۴۲**	۲۰۱۴/۷**
کیتوزان × شوری	۹	۰/۲۷ ^{ns}	۲/۹ ^{ns}	۰/۰۰۱۴۷**	۰/۰۰۴۲۸**	۸۲/۷**
خطای آزمایشی	۳۰	۰/۱۶	۶/۴	۰/۰۰۰۱۶	۰/۰۰۰۳۹	۴/۲
ضریب تغییرات		۷/۱۶	۲/۹	۶/۲۵	۶/۲۸	۴/۹

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

ادامه جدول ۱-

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر ریشه‌چه	وزن تر ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه	شاخص طولی
کیتوزان	۳	۹۰۳/۵**	۳۳/۳۸**	۹۱/۳۲**	۲/۰۳**	۱۹۰۱/۲۴**
شوری	۳	۱۱۶۸/۷**	۲۴/۹۲**	۱۰۴/۳۵**	۶/۸۹**	۳۶۲۴/۵۲**
کیتوزان × شوری	۹	۳۵/۷**	۰/۱۵ ^{ns}	۳/۲۳**	۰/۲۶*	۱۰۱/۶۳**
خطای آزمایشی	۳۰	۸/۱	۰/۳	۰/۹	۰/۱	۴/۶
ضریب تغییرات		۷/۷	۵/۹۱	۹/۵۹	۱۳/۶۴	۴/۴۹

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

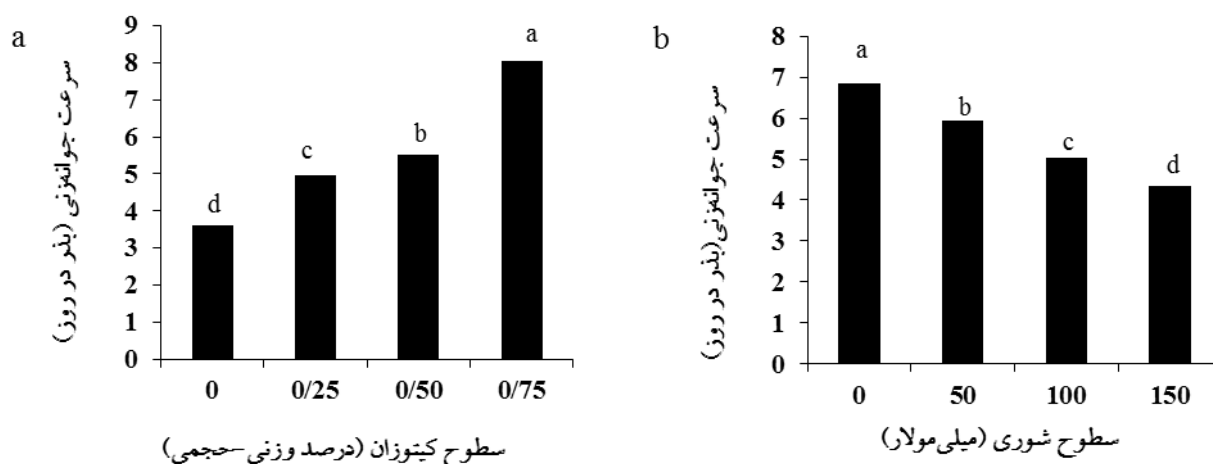
جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پرایمینگ بذر با کیتوزان بر فعالیت‌های آنزیمی گیاهچه برنج در شرایط تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		کاتالاز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسمیوتاز	آمیلاز
کیتوزان	۳	۲۵/۷**	۱۸۱/۷**	۶۴۲/۴**	۳۴/۵**
شوری	۳	۵۶/۵**	۵۶۱/۵**	۱۲۹۳/۷**	۴۰۹/۹**
کیتوزان × شوری	۹	۱/۸*	۸/۹*	۳۷/۹*	۶/۲**
خطای آزمایشی	۳۰	۰/۸	۴/۲	۱۶/۹	۱/۹
ضریب تغییرات		۴/۹	۳/۶	۳/۲	۱۰/۶

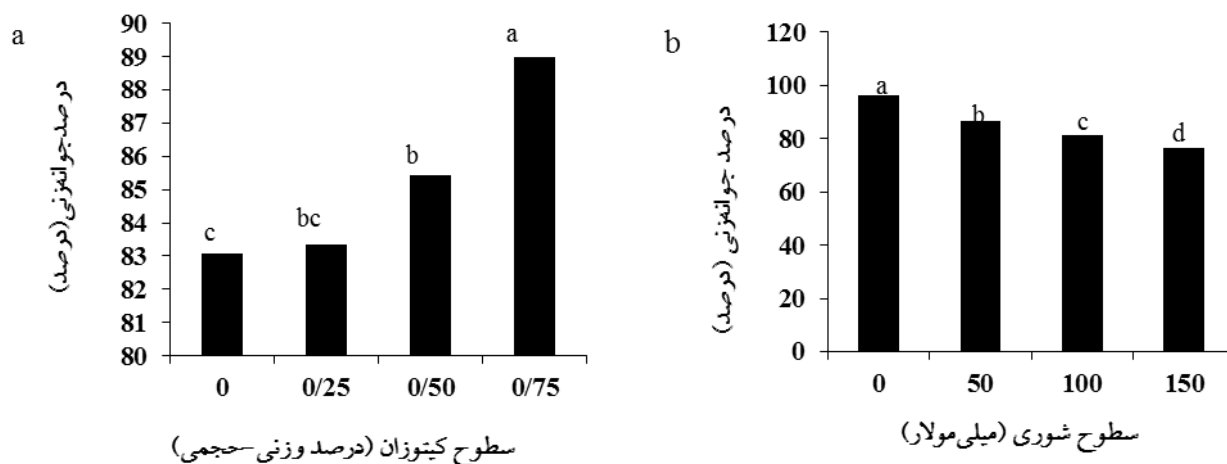
* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

فعالیت RNA و پروتئین‌سازی در بذرهای پرایم‌شده بیان شده است (Chojnowski and Come, 1997). پرایمینگ باعث

سرعت و درصد جوانه‌زنی طی پرایمینگ تحت شرایط تنش، افزایش در فعالیت‌های تنفسی، تولید ATP، تحریک



شکل ۱- (a و b) مقایسه میانگین اثر ساده کیتوزان و شوری بر روی سرعت جوانه‌زنی در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.



شکل ۲- (a و b) مقایسه میانگین اثر ساده کیتوزان و شوری بر روی درصد جوانه‌زنی در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده مواد ذخیره‌ای شده و به علت قابلیت دسترسی آسان گیاهچه به مواد غذایی در طول مرحله جوانه‌زنی، بذرهای پرایمینگ شده بهتر قادر به کامل کردن فرایند جوانه‌زنی در زمان کوتاه‌تر می‌شود (بابایی قافلستانی و همکاران، ۱۳۹۵). به نظر می‌رسد عامل بیشتر بودن سرعت جوانه‌زنی سرعت بیشتر جذب آب و آماس بذر آنها است. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال شود و یا جذب به آرامی صورت گیرد، فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه مدت زمان

خروج ریشه‌چه از بذر افزایش می‌یابد و لذا سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (قادری‌فر و سلطانی، ۱۳۹۷). کیتوزان می‌تواند فرآیندهای گیاهی را در هر سطح از سازمان بیولوژیکی گیاه تحریک کند که حاصل تغییرات در سطح مولکولی و حتی تغییر بیان ژن‌هاست (Limpanavech *et al.*, 2008). فرایند پرایمینگ بذر سبب بهبود غشای سیتوپلاسمی شده و این امر باعث کاهش اتلاف الکترولیت‌ها و افزایش درصد جوانه‌زنی شده است. در طی عمل پرایمینگ بذر افزایش سنتز پروتئین و فعال‌سازی آنزیم‌ها به خصوص هیدرولاز و آلفا آمیلاز در جنین

جوانه‌زنی کامل شده و بذر در آستانه جوانه‌زنی قرار می‌گیرد (Foti et al., 2008; Brancalion et al., 2008).

ضریب آلومتري: بیش‌ترین ضریب آلومتري (۰/۴۵۲) از پرایمینگ با کیتوزان ۰/۲۵ درصد و با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. کم‌ترین ضریب آلومتري (۰/۲۲۹) در کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری به‌دست آمد (جدول ۳).

ضریب آلومتري نمایانگر نوعی از تحمل به تنش در نظر گرفته می‌شود. اگر چه نسبت بین قسمت‌های هوایی و ریشه تحت کنترل ژنتیکی است، ولی به‌طور شدیدی تحت تأثیر محیط هم قرار می‌گیرد. ضریب آلومتري از تقسیم میانگین طول ریشه‌چه به ساقه‌چه به‌دست می‌آید. در این تحقیق، ضریب آلومتري با افزایش سطوح شوری افزایش یافت، که نشان می‌دهد با افزایش سطوح شوری نسبت کاهش طول ساقه‌چه به ریشه‌چه کمتر بود و این در حالی بود که پرایمینگ بذر با کیتوزان ۲۵ درصد بالاترین ضریب آلومتري را دارا بود و سطوح بالاتر کیتوزان باعث کاهش ضریب آلومتري شد. کاهش ضریب آلومتري به‌طور مستقیم نشان‌دهنده کاهش رشد ریشه‌چه و ماده خشک ریشه‌چه بوده و به‌طور غیرمستقیم نشان دهنده تولید گیاهچه‌های ضعیف و بذره‌ای با بنیه پایین است.

طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول گیاهچه: بیش‌ترین طول ریشه‌چه (۷۸/۵ میلی‌متر) از پیش‌ تیمار کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهده شد. کم‌ترین طول ریشه‌چه (۲۲/۳ میلی‌متر) در کیتوزان ۰/۲۵ درصد با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد (جدول ۳). هم‌چنین، بیش‌ترین طول ساقه‌چه (۱۸ میلی‌متر) و طول گیاهچه (۹۶/۵ میلی‌متر) از پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهده شد. و کم‌ترین طول ساقه‌چه (۸/۰۶۷ میلی‌متر) و طول گیاهچه (۳۱/۶۳۳ میلی‌متر) در شاهد (آب‌مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید (جدول ۳).

طول ریشه‌چه شاخصی از رشد و نمو و بنیه گیاهچه است و تغییرات آن نیز برای ارزیابی بنیه گیاهچه مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد. تنش شوری به سبب کاهش مواد ذخیره‌ای و کیفیت بذر، منجر به کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه و در

رخ می‌دهد پرایمینگ باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در بذر می‌گردد که این آنزیم‌ها فعالیت پراکسیداسیون لیپید را در طی جوانه‌زنی کاهش داده در نتیجه باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شوند (Farooq, 2007). محققان تحت تنش شوری دریافتند که پرایمینگ بذر موجب افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی و افزایش فعالیت آنزیم‌های جوانه‌زنی می‌گردد (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۷؛ Sarkar et al., 2020). در واقع، پرایمینگ با افزایش میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از تأثیرات تنش کاسته و به موجب آن سرعت و درصد جوانه‌زنی را بهبود می‌بخشد.

میانگین مدت جوانه‌زنی: بیش‌ترین میانگین مدت جوانه‌زنی (۰/۳۶۶ روز) در شاهد (آب‌مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. شوری باعث افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی شد و کم‌ترین آن (۰/۱۰۱ روز) در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهده گردید (جدول ۳). در واقع، پرایمینگ با کیتوزان باعث کاهش میانگین مدت جوانه‌زنی شد. در این راستا محمدیان و همکاران (۱۳۹۷) گزارش کرد میانگین مدت جوانه‌زنی با افزایش سطوح تنش شوری افزایش می‌یابد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش مطابقت دارد. برخی از پژوهشگران علت کاهش میانگین را ناشی از بروز اختلالات رشدی و کوچک‌شدن غیرطبیعی سطح در مرحله جوانه‌زنی حاصل از تنش شوری عنوان کرده‌اند (قنبری و کرم‌نیا، ۱۳۹۵). بهبود میانگین مدت در بذره‌ای پرایم شده ممکن است ناشی از برهمکنش بین رادیکال‌های آزاد و سنتز مجدد آنزیم‌های متصل به غشا باشد (Srinivasan et al., 2001). مطالعات نشان داده است که پرایمینگ با کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر سرعت جوانه‌زنی و میانگین مدت جوانه‌زنی داشت این افزایش سرعت در جوانه‌زنی در همه سطوح شوری به‌دست آمد (منصوری و همکاران، ۱۳۹۵). علت کاهش میانگین زمان جوانه‌زنی در اثر اعمال پرایمینگ بذر به افزایش احتمالی سرعت تقسیم سلولی در بذره‌ای پرایم‌شده نسبت داده شده است که در اثر سنتز DNA، RNA و پروتئین در طی پرایمینگ بذر بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی در فرآیند

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل پیش تیماری بذر با کیتوزان بر شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد گیاهچه برنج در تنش شوری

اثر متقابل	میانگین مدت جوانه‌زنی (روز)	ضریب آلومتری	طول ریشه‌چه (میلی‌متر)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر)	طول گیاهچه (میلی‌متر)	وزن تر ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقه‌چه (گرم)	شاخص طولی بینه	شاخص وزنی بینه
P1s1	۰/۲۱۷ ^e	۰/۳۰۰ ^{ef}	۴۱/۳۳۳ ^e	۱۲/۴۰۰ ^e	۵۳/۳۳۳ ^e	۳۴/۹۶۷ ^{de}	۹/۱۰۰ ^{de}	۲/۲۶۷ ^{cdef}	۵۰/۸۶۱ ^{de}	۱۱/۰۸۵ ^{de}
P1s2	۰/۲۴۰ ^{cd}	۰/۳۵۴ ^{cd}	۳۱/۳۳۳ ^g	۱۱/۰۶۷ ^f	۴۲/۴۰۰ ^g	۲۹/۱۶۷ ^f	۷/۷۶۷ ^{efg}	۲/۳۰۰ ^{defg}	۳۵/۰۴۹ ^{gh}	۸/۳۳۸ ^{fghi}
P1s3	۰/۳۳۴ ^b	۰/۳۵۵ ^{cd}	۲۷/۳۶۷ ^h	۹/۶۶۷ ^g	۳۷/۰۳۳ ^h	۲۳/۷۰۰ ^g	۶/۴۶۷ ^{gh}	۱/۹۳۳ ^{gh}	۲۹/۸۸۱ ⁱ	۶/۷۹۴ ^{ij}
P1s4	۰/۳۶۶ ^a	۰/۳۴۳ ^{cd}	۲۳/۵۶۷ ⁱ	۸/۰۶۷ ^h	۳۱/۶۳۳ ⁱ	۱۸/۵۶۷ ^h	۴/۷۶۷ ⁱ	۱/۲۶۷ ⁱ	۲۳/۵۱۷ ^j	۴/۴۸۷ ^k
P2s1	۰/۱۶۷ ^{ghi}	۰/۲۵۲ ^{gh}	۵۵/۵۳۳ ^c	۱۳/۹۶۷ ^c	۶۹/۵۰۰ ^c	۴۲/۶۳۳ ^c	۱۲/۶۳۳ ^{bc}	۲/۸۶۷ ^{bcd}	۶۵/۷۸۶ ^c	۱۴/۳۶۲ ^c
P2s2	۰/۱۸۴ ^{fg}	۰/۲۷۶ ^{fg}	۴۴/۳۳۳ ^{de}	۱۲/۲۳۳ ^e	۵۶/۵۶۷ ^e	۳۸/۵۳۳ ^{cd}	۹/۰۳۳ ^{ed}	۲/۴۰۰ ^{defg}	۴۸/۵۰۲ ^e	۹/۷۸۱ ^{ef}
P2s3	۰/۲۲۴ ^{de}	۰/۳۲۸ ^{de}	۳۵/۲۳۳ ^f	۱۱/۵۶۷ ^f	۴۶/۸۰۰ ^f	۳۰/۷۳۳ ^{ef}	۸/۰۶۷ ^{defg}	۲/۱۰۰ ^{efgh}	۳۶/۹۸۱ ^{gf}	۸/۰۱۳ ^{ghi}
P2s4	۰/۲۵۷ ^c	۰/۴۵۲ ^a	۲۲/۳۰۰ ⁱ	۱۰/۰۶۷ ^g	۳۲/۳۶۷ ⁱ	۳۰/۶۰۰ ^g	۵/۶۰۰ ^{hi}	۱/۶۳۳ ^{hi}	۲۳/۹۵۵ ^j	۵/۳۵۶ ^{jk}
P3s1	۰/۱۴۶ ^{ij}	۰/۲۵۸ ^{gh}	۵۶/۰۰۰ ^c	۱۴/۴۳۳ ^c	۷۰/۴۳۳ ^c	۵۱/۴۶۷ ^b	۱۳/۹۰۰ ^b	۳/۳۶۶ ^b	۶۷/۸۵۶ ^c	۱۵/۴۱۳ ^c
P3s2	۰/۱۶۸ ^{gh}	۰/۲۷۷ ^{fg}	۴۷/۱۶۷ ^d	۱۳/۰۶۷ ^d	۶۰/۲۳۳ ^d	۴۲/۸۶۷ ^c	۱۲/۰۳۳ ^c	۲/۷۰۰ ^{cde}	۵۲/۳۹۶ ^d	۱۲/۵۸۸ ^d
P3s3	۰/۱۹۶ ^f	۰/۳۲۷ ^{de}	۳۷/۲۳۳ ^f	۱۲/۱۶۷ ^e	۴۹/۴۰۰ ^f	۳۵/۶۶۷ ^{de}	۹/۷۰۰ ^d	۲/۰۶۷ ^{efgh}	۴۰/۳۵۰ ^f	۹/۶۲۱ ^{efg}
P3s4	۰/۲۴۱ ^{cd}	۰/۳۷۳ ^{bc}	۳۰/۸۶۷ ^g	۱۱/۵۰۰ ^f	۴۲/۳۶۷ ^g	۲۹/۷۰۰ ^f	۶/۶۰۰ ^{fgh}	۱/۵۳۳ ^{hi}	۳۲/۵۰۲ ^{hi}	۷/۰۲۸ ^{hi}
P4s1	۰/۱۰۱ ^l	۰/۲۲۹ ^h	۷۸/۵۰۰ ^a	۱۸ ^a	۹۶/۵۰۰ ^a	۶۴/۱۶۷ ^a	۱۷/۲۳۳ ^a	۴/۵۳۳ ^a	۹۵/۸۵۶ ^a	۲۰/۹۶۰ ^a
P4s2	۰/۱۲۳ ^k	۰/۲۳۵ ^h	۶۴/۷۰۰ ^b	۱۵/۲۰۰ ^b	۷۹/۹۰۰ ^b	۵۲ ^b	۱۶ ^a	۳/۲۳۳ ^{bc}	۷۲/۹۸۰ ^b	۱۷/۲۶۰ ^b
P4s3	۰/۱۳۲ ^{jk}	۰/۳۲۱ ^{de}	۴۶/۰۳۳ ^d	۱۴/۵۰۰ ^c	۶۰/۵۳۳ ^d	۴۲ ^c	۱۲/۵۳۳ ^{bc}	۲/۶۰۰ ^{def}	۵۱/۲۰۱ ^{de}	۱۲/۵۳۸ ^d
P4s4	۰/۱۵۳ ^{hij}	۰/۳۹۹ ^b	۳۴/۹۰۰ ^f	۱۳/۹۳۳ ^c	۴۸/۸۳۳ ^f	۲۹/۵۳۳ ^f	۸/۲۶۸ ^{def}	۱/۸۳۳ ^{ghi}	۳۹/۳۸۸ ^f	۸/۴۷۴ ^{gf}

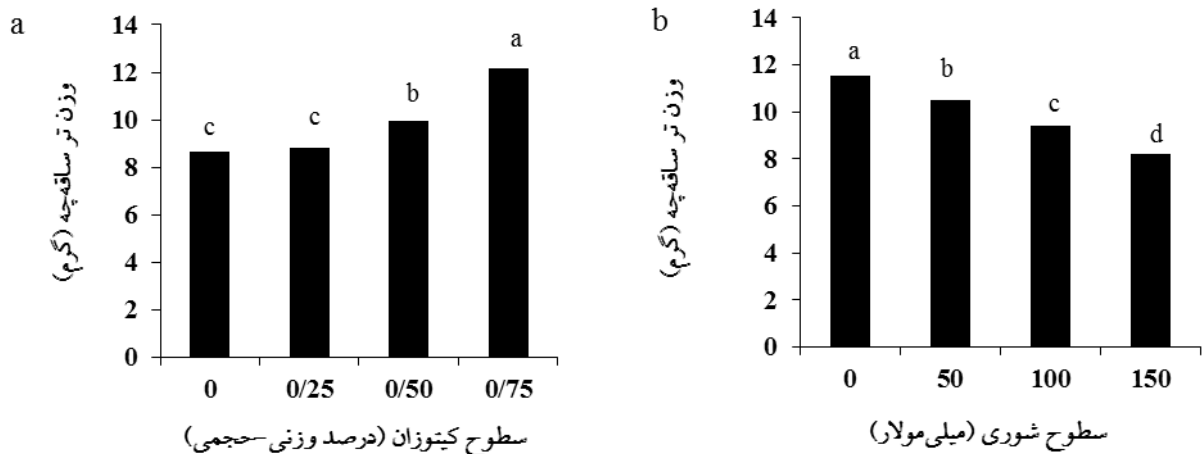
P1: شاهد (آب مقطر)، P2: کیتوزان ۰/۲۵٪، P3: کیتوزان ۰/۵۰٪، P4: کیتوزان ۰/۷۵٪، S1: شوری صفر، S2: شوری ۵۰، S3: شوری ۱۰۰، S4: شوری ۱۵۰

S4: شوری ۱۵۰

هیدرولیز آنزیمی مواد ذخیره‌ای بذر باشد. همچنین، تأثیر مفید پرایمینگ بر جوانه‌زنی ممکن است به افزایش فعالیت آنزیم ایندو بتاماناز مربوط شود که باعث تضعیف شدن دیواره سلولی و بهبود ظهور ریشه‌چه شود (بابایی قافلستانی و همکاران، ۱۳۹۵). کیتوزان با افزایش طول ساقچه، طول گیاهچه و وزن خشک می‌تواند هزینه‌های ناشی از تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه را جبران نموده و مانع از کاهش ماده خشک گیاه گردد (منصوری و امید، ۱۳۹۷؛ Cho et al., 2008). همچنین، تأثیر مثبت کیتوزان بر رشد گیاهچه ممکن است به علت تأثیر آن بر افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و پتاسیم باشد (Abdallah et al., 2020). تحقیقات نشان داده است که کاربرد کیتوزان با غلظت‌های متفاوت بر طول ریشه، وزن تر و خشک گیاهچه اطلسی تأثیر

نتیجه تولید گیاهچه‌های ضعیف‌تر شد. هنگامی که گیاه در شرایط شوری رشد می‌کند فعالیت فتوسنتزی آن کاهش یافته و منجر به کاهش طول ساقچه می‌گردد. کاهش طول ساقچه و ریشه‌چه تحت تنش شوری در ذرت گزارش شده است (Konuskan et al., 2017). می‌توان گفت تخریب غشای سلولی طی تنش شوری منجر به کاهش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز شده و کاهش فعالیت آنزیم آلفا‌آمیلاز تحت تنش شوری موجب کاهش متابولیسم ذخایر غذایی بذر و کاهش رشد و طول گیاهچه گیاهان می‌شود، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

استفاده از کیتوزان برای پرایمینگ بذر برنج اثر مثبتی بر افزایش طول ریشه‌چه و ساقچه داشت، افزایش طول ساقچه می‌تواند به دلیل افزایش انتقال فرآورده‌های متابولیکی ناشی از



شکل ۳- (a و b) مقایسه میانگین اثر ساده کیتوزان و شوری بر روی وزن تر ساقه‌چه در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

آسیب به بافت‌ها و سمیت احتمالی ناشی از تجمع بیش از حد یون‌ها، مخصوصاً سدیم باشد که گیاه آن را تحمل می‌کند (Meneguzzo *et al.*, 2000; Tavakkoli *et al.*, 2011). اثر بازدارندگی شوری ممکن است به دلیل اثرات آن بر تقسیم سلولی و بزرگ شدن نقطه رشد باشد (McCue and Hanson, 1990). با افزایش غلظت املاح، پتانسیل اسمزی محلول افزایش یافته، در نتیجه مقدار انرژی که گیاه باید صرف جذب آب نماید افزایش می‌یابد که این عمل باعث کاهش جذب آب شده و به دنبال آن فشار تورژسانس سلول‌ها نیز کاهش می‌یابد (Hawrylak *et al.*, 1998; Malash *et al.*, 2008; Rawson *et al.*, 2019). تنش شوری باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه در کلزا و گیاهچه اطلسی شد، که با نتایج این تحقیق هم مطابقت داشت (Tunçtürk *et al.*, 2011; Krupa-Małkiewicz and Fornal, 2018). رشد برنج در کاربرد با کیتوزان به دلیل تولید متابولیت‌های مختلفی است که باعث کاهش تعرق شده و در نتیجه آب بیشتری برای رشد و تولید بهتر در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد. تیمار با کیتوزان باعث افزایش وزن تر ریشه و ساقه گیاهان در شرایط تنش می‌گردد که با نتایج این تحقیق هم مطابقت داشت (ملک‌پور و همکاران، ۱۳۹۵). پرایمینگ از طریق تأثیر بر رشد محور جنین و نمو گیاهچه هدایت

معنی‌دار داشته و آثار مخرب تنش شوری کاهش می‌دهد (Krupa-Małkiewicz and Fornal, 2018)، که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. نتایج پژوهش Ghalavand و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که پرایمینگ باعث افزایش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تنش شوری شد.

وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه: بیش‌ترین وزن تر ریشه‌چه (۶۴/۱۶۷ گرم)، وزن خشک ریشه‌چه (۱۷/۲۳۳ گرم) و وزن خشک ساقه‌چه (۴/۵۳۳ گرم) از پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهده شد. و کم‌ترین وزن تر ریشه‌چه (۱۸/۵۶۷ گرم)، وزن خشک ریشه‌چه (۴/۷۶۷ گرم) و وزن خشک ساقه‌چه (۱/۲۶۷ گرم) در شاهد (آب‌مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید (جدول ۳). هم‌چنین، بیش‌ترین وزن تر ساقه‌چه در پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد وزنی- حجمی (۱۲/۲۳۳ گرم) و کم‌ترین آن در شاهد (آب‌مقطر) (۸/۵۶۷ گرم) حاصل گردید (شکل ۳a). و این صفت با تشدید شوری کاهش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین وزن تر ساقه‌چه در شاهد (بدون شوری) (۱۱/۵۴۱ گرم) و کم‌ترین آن در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار (۸/۱۸۳ گرم) بود (شکل ۳b).

کاهش وزن خشک و تر گیاهچه در شرایط شوری می‌تواند ناشی از صرف انرژی متابولیک برای سازگاری به شرایط تنش،

(units ۱۵۷/۲۳۳) از پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و کم‌ترین آن‌ها به ترتیب (units ۱۴/۲۶۷)، (units ۴۵/۱۰۰) و (units ۱۰۹/۰۰۰) در شاهد (آب‌مقطر) و شوری صفر میلی‌مولار (شاهد) مشاهده گردید (شکل ۴، ۵ و ۶).

بیش‌ترین فعالیت آمیلاز ($23/333 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$) از پیش‌تیمار با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری و کم‌ترین آن ($6/400 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$) در شاهد (آب‌مقطر) و شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۷).

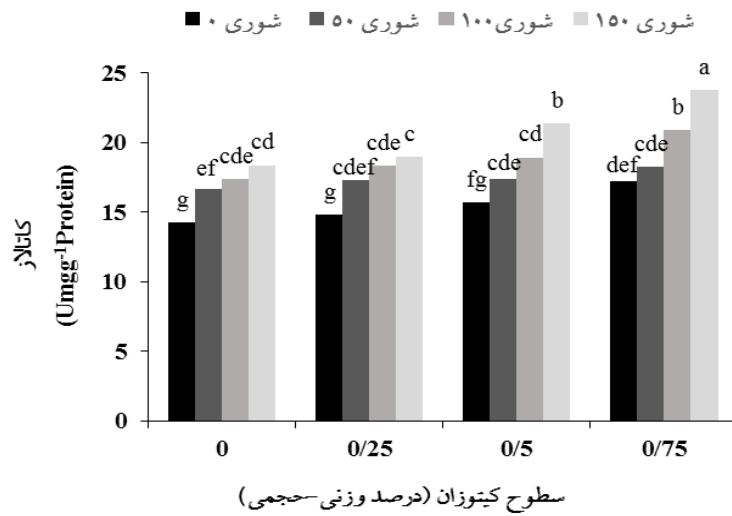
نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌ها در شرایط تنش شوری نسبت به عدم اعمال تنش بیش‌تر می‌شود، با تحقیقات انجام گرفته روی گیاهان مختلف مطابقت داشت (شهبازی و همکاران، ۱۴۰۰؛ *Zhong et al.*, 2020; *Kibria et al.*, 2017; *Chunthaburee et al.*, 2016). دلیل آن عدم توانایی استفاده از آب تحت تنش شوری است. این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش تخریب غشا سلولی ناشی از اثرات منفی رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده به بقا گیاهچه کمک می‌نماید (*Pullen and Saeed*, 2012). تنش شوری با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به تنش اکسیداتیو منجر می‌شود (*Isayenkov*, 2012). گونه‌های فعال اکسیژن در سیتوزول از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم را مختل می‌کنند (کافی و همکاران، ۱۳۹۷). بنابر نتایج تحقیق انجام‌شده، کیتوزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را نسبت به شاهد تحت تنش افزایش داد که با نتایج، تحقیقات دیگر هم‌خوانی دارد (مزارعی و همکاران، ۱۳۹۸؛ موسوی و همکاران، ۱۴۰۰؛ *Abdallah et al.*, 2020; *Behboudi et al.*, 2018; *Shams Peykani and Farzami Sepehr*, 2018). به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برنج به دلیل اثر تحریک‌کنندگی کیتوزان‌ها بر ژن‌های درگیر در بیوستز آنزیم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد که با نتایج طاهری (طاهری، ۱۳۹۴) در گیاه کمای بینالودی (*Ferula flabelliloba*) مطابقت دارد. این ترکیبات برای تعیین مسیرهای بیوستزی به تشکیل و تنظیم

الکتریکی را افزایش داده و با تحت تأثیر قرار دادن فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهچه موجب افزایش وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه شده و از طریق افزایش سنتز آنزیم دهیدروژناز و میزان پویایی ذخایر بذر موجب افزایش وزن خشک ریشه‌چه می‌شود (*Basra et al.*, 2003; *Sivritepe et al.*, 2003).

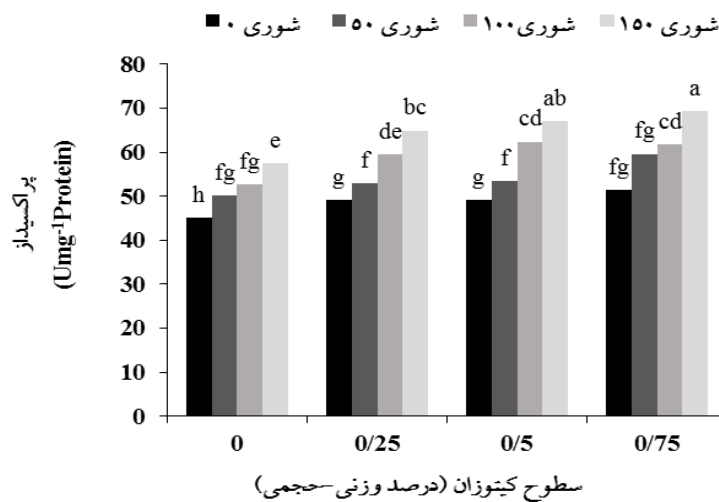
شاخص طولی و وزنی بنیه بذر: بیش‌ترین شاخص طولی بنیه بذر (۹۵/۸۵۶) و شاخص وزنی بنیه بذر (۲۰/۹۶۰) از پرایمینگ با کیتوزان ۰/۷۵ درصد و بدون شوری مشاهده شد. و کم‌ترین شاخص طولی بنیه بذر (۲۳/۵۱۷) و شاخص وزنی بنیه بذر (۴/۴۸۷) در شاهد (آب‌مقطر) با شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۳).

بنیه بذر از مهم‌ترین جنبه‌های کیفیت بذر در گیاه بوده و نقش مهمی در تعیین کیفیت آن دارد. شاخص بنیه بذر نشان دهنده تداوم جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های قوی و سالم است و هر چه قدرت رویش بذر بیش‌تر باشد نشان‌دهنده کیفیت بالای بذرهای تولیدی است (سیداحمدی، ۱۳۹۲). بنابراین می‌توان گفت علت افزایش شاخص بنیه بذر در پیش‌تیمار با کیتوزان، به دلیل بیش‌تر بودن درصد جوانه‌زنی بوده است که موجب افزایش تعداد کل بذرهای جوانه‌زده یا گیاهچه‌های تولید شده و همچنین طول و وزن ساقه‌چه و ریشه‌چه گردیده که از آنجایی‌که شاخص طولی و وزنی بنیه، حاصل‌ضرب درصد جوانه‌زنی با طول و وزن گیاهچه است، در نتیجه افزایش درصد جوانه‌زنی، طول گیاهچه و وزن گیاهچه موجب افزایش شاخص طولی و وزنی بنیه بوده است. همچنین، علت افزایش شاخص بنیه بذر تحت پرایمینگ می‌تواند مربوط به حرکت ذخایر غذایی، فعالیت و سنتز مجدد بعضی آنزیم‌ها، شروع سنتز مجدد RNA و DNA و رشد سریع جنین به دنبال برطرف شدن موانع جوانه‌زنی در پرایمینگ باشد (*Basra et al.*, 2003).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز CAT (units ۲۳/۷۶۷)، پراکسیداز POX (units ۶۹/۳۶۷) و سوپراکسید دیسموتاز SOD



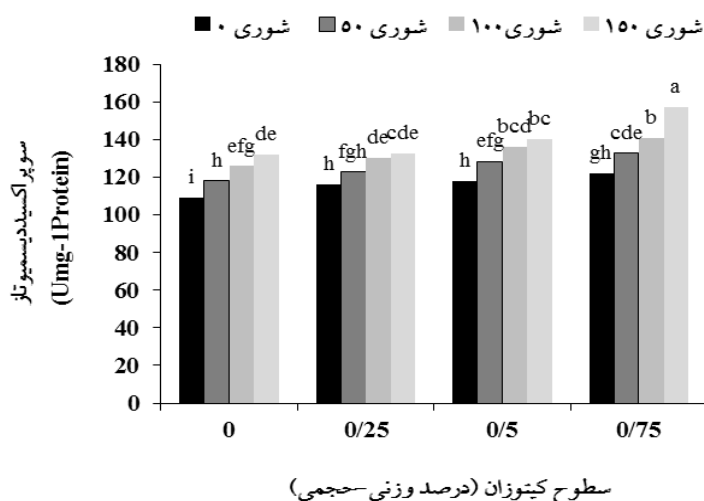
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل کیتوزان و شوری بر کاتالاز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.



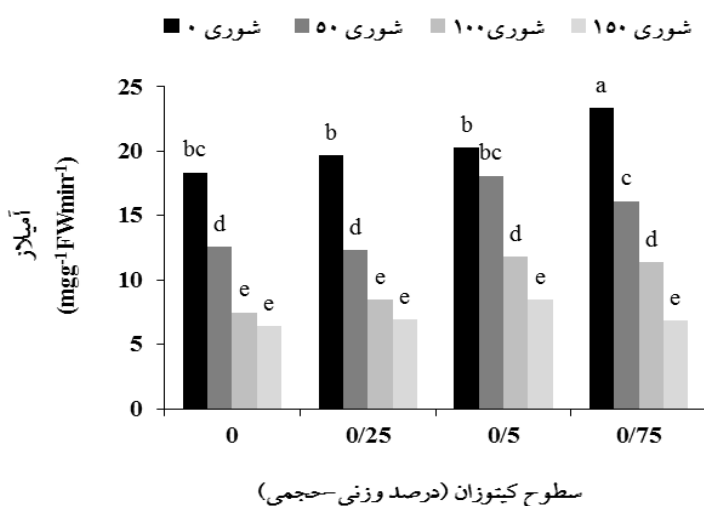
شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل کیتوزان و شوری بر پراکسیداز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.

داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی تمامیت غشا، جذب انتخابی یون و نقل و انتقال یون را SOD که توسط تنش آسیب دیده است بهبود می‌بخشد. کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O₂ را از طریق القای و CAT خنثی کند و مشخص شده است که خاصیت حفاظت‌کننده از DNA را دارد (Prashanth *et al.*, 2007; Abdallah *et al.*, 2020). سازوکار خنثی‌کنندگی رادیکال‌های آزاد توسط کیتوزان ممکن است به ساختار خاص آن مربوط باشد که از تعداد زیادی گروه آمین و هیدروکسیل

متابولیت‌های ثانویه برای مقابله با شرایط تنش منجر می‌شود (Waseem *et al.*, 2010). پرایمینگ بذر از طریق تأثیر بر سازمان‌دهی سازوکارهای دفاعی آنتی‌اکسیدانتی، افزایش بعضی از تنظیم‌کننده‌های رشد (اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها) و در ادامه افزایش در شاخص‌های جوانه‌زنی، باعث بهبود فعالیت آنزیم‌ها گردیده است. چنین نتایجی با گزارش دادنیا (دادنیا، ۱۳۹۶) مطابقت داشت. اخیراً فعالیت آنتی‌اکسیدانت کیتوزان مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Park *et al.*, 2004). کیتوزان با



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل کیتوزان و شوری بر روی سوپراکسید دیسمیوتاز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل کیتوزان و شوری بر آمیلاز در برنج. حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

تحریک رشد گیاه می‌شود (Harish Prashanth *et al.*, 2007; Yen *et al.*, 2008). انتقال مواد ذخیره‌ای از بافت ذخیره‌ای به منظور توسعه محور جنین به فعالیت آمیلاز بستگی دارد تا زمانی که، گیاهچه رشد کند و خودکفا شود (Nandi *et al.*, 1995). در این تحقیق، شوری فعالیت آنزیم آمیلاز کاهش داد، تنش به طور چشمگیری باعث کاهش فعالیت آمیلاز در طی مراحل جوانه‌زنی می‌شود که هیدرولیز مواد ذخیره‌ای را محدود می‌کند. ولی پرایمینگ بذر با کیتوزان، این ممانعت از فعالیت

قابل دسترس تشکیل شده که با رادیکال‌های آزاد واکنش نشان می‌دهد (Mahdavi and Rahimi, 2013). کیتوزان خسارت ناشی از شوری را با افزایش تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند کاهش پراکسیداسیون لیپید غشا را جبران نموده و تراوایی غشا سلول را کاهش می‌دهد. در واقع کیتوزان با نقش حفاظتی خود می‌تواند باعث پایداری غشاها گردد. به‌طورکلی، کیتوزان از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و جاروب گونه‌های فعال اکسیژن، باعث مقاومت گیاه در مقابل تنش‌ها و

کلسیم سیتوزولی، فعال‌سازی آنزیم MAP-Kinase، توقف فعالیت آنزیم H-ATPase در غشای پلاسمایی، تغییرات کروماتین، سنتز آلکالوئیدها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی باعث جلوگیری از تخریب سیستم غشایی شود (Amborabe *et al.*, 2008). می‌توان گفت که محرک‌هایی مثل کیتوزان ممکن است ژن‌های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوستیزی مختلفی را راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند.

براساس نتایج حاصل، پرایمینگ با کیتوزان باعث افزایش شاخص‌های جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد گیاهچه برنج و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش شوری گردید. و با توجه به نتایج مقایسه میانگین می‌توان غلظت ۰/۷۵ درصد پیش‌تیمار کیتوزان را تیمار مؤثرتری برای گیاهچه برنج در شرایط تنش شوری دانست و از آن برای کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری استفاده کرد، البته برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر و قطعیت بیشتر، لازم است مطالعات بیشتر روی بذور سایر گیاهان صورت گیرد.

آنزیم آلفا آمیلاز از بین برده و جوانه‌زنی تحت تنش شوری انجام گرفت. مطالعات نشان می‌دهد فعالیت آمیلاز با غلظت مناسب کیتوزان تحت شرایط تنش باعث انتقال سریع مواد ذخیره‌ای به محور جنین می‌شود و در نتیجه مواد و انرژی کافی برای جوانه‌زنی بذر را فراهم می‌کند. افزایش چنین آنزیم‌های می‌تواند از دلایل افزایش طول ریشه‌چه و ساقچه بذرهای پرایم شده باشد (Kaur *et al.*, 2005).

نتیجه‌گیری

مکانیسم اثر کیتوزان بر روی رشد هنوز مشخص نشده است، ولی تا حدی ممکن است مربوط به عنصر نیتروژن موجود در ساختار آن باشد که در ساختارهای آمینواسیدی شرکت می‌کند. همچنین ممکن است کیتوزان افزایش رشد و نمو در گیاه را از طریق مسیرهای سیگنالی که منجر به بیوستنز اکسین از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان می‌شود، تنظیم کند (بیگم حسینی و همکاران، ۱۳۹۲؛ Uthairatanakij *et al.*, 2007). کیتوزان از طریق حفاظت سیستم غشایی سبب کاهش آثار زیان بار تنش شوری و تحمل گیاه نسبت به تنش می‌شود، هر چند این موضوع به خوبی روشن نیست. همچنین، می‌تواند با افزایش

منابع

- ابراهیمی، ا.، اسمعیلی، م. م.، صبوری، ح. و طهماسبی، ا. (۱۳۹۱) اثر تنش‌های شوری و خشکی بر روی جوانه‌زنی دو گیاه مرتعی *Agropyron elongatum* و *Agropyron deserttrum* نشریه مهندسی اکوسیستم بیابان ۱: ۳۸-۳۱.
- احمدی، خ.، امیدی، ح.، شجاعیان، م.، قادری، ع. و صبوری‌فرد، ح. (۱۴۰۰) ارزیابی ویژگی‌های جوانه‌زنی، مورفوفیزیولوژیک و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ارقام جو در تحمل به شوری طبیعی. علوم و تحقیقات بذر ایران ۸: ۲۹۲-۲۷۵.
- امیدی، ح.، جعفرزاده، ل. و نقدی بادی، ح (۱۳۹۳) بذر گیاهان دارویی و زراعی. جلد ۱، انتشارات دانشگاه شاهد، تهران.
- بابایی قاقلستانی، ع.، اسدی گاکیه، م.، فلاحی، ن. و حاتمی قره قوینی، ن. (۱۳۹۵) نقش اسموپرایمینگ بر جوانه‌زنی گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت شرایط عصاره آللوپاتیک علف هرز دم روباهی (*Setaria viridis* L.). نشریه تحقیقات بذر ۶: ۱۹-۲۶.
- بهبود، ر.، مرادی، ع. و فرجی، ه. (۱۳۹۹) تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی ذرت شیرین (*Zea mays* var. *saccharata*) در شرایط تنش اسمزی. پژوهش‌های بذر ایران ۷: ۲۲-۱.
- بیگم حسینی، م.، طاهری، ق.، واعظی کاخکی، م. ر. و طلائی، م. (۱۳۹۲) کاربرد برگی کیتوزان بر رشد و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*). همایش ملی پدافند غیر عامل در بخش کشاورزی، قشم.
- پیرسته انوشه، ه.، روستا، م. ج. و یحیی، م. (۱۳۹۴) روش‌های مختلف تیمار گیاهان زراعی با اسید سالیسیلیک در پژوهش‌های شوری. مرکز ملی تحقیقات شوری، یزد.

- دادنیا، م. ر. (۱۳۹۶) اثر هیومیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد کرچک (*Ricinus communis L.*) در شرایط کمبود آب. اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی (علوم کشاورزی) ۱۱: ۸۵-۹۸.
- دهجی‌پور حیدرآبادی، م.، دهقانی، م. ر.، مرادی اندوهجردی، ف.، ملک‌زاده، خ. و سروش، ف. (۱۴۰۰) تأثیر پیش تیمار اسید استیک بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و مولکولی گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis L.*) تحت تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۰: ۲۲۹-۲۵۰.
- سیداحمدی، ع. (۱۳۹۲) ارزیابی مؤلفه‌های جوانه‌زنی و بنیه بذرهای مادری کلزا حاصل از تنش گرما و خشکی انتهایی فصل رشد. فیزیولوژی گیاهان زراعی ۵: ۶۱-۷۵.
- شکرپور، م. و اسفندیاری، ع. (۱۳۹۳) گروه‌بندی ارقام مختلف گندم از نظر تحمل شوری براساس برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۶: ۵۴-۶۶.
- شهبازی، ن.، کاظمی‌تبار، س. ک.، پاکدین پاریزی، ع. و مهربان جوبنی، پ. (۱۴۰۰) واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مختلف کنجد (*Sesamum indicum*) در شرایط تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۰: ۲۲۷-۲۳۴.
- طاهری، ق. (۱۳۹۴) اثر محلول‌پاشی کیتوزان بر خصوصیات فیزیولوژیکی کمای بینالودی (*Ferula flabelliloba*) تحت تنش خشکی. فصلنامه پژوهش‌های زراعی ایران ۱۳: ۷۳۷-۷۲۸.
- عقیقی شاهوردی، م.، امید، ح. و موسوی، س. ا. (۱۳۹۵) تأثیر کیتوزان بر جوانه‌زنی و صفات بیوشیمیایی گیاهچه ماریتیغال (*Silybum marianum L.*) تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های بذر ایران ۳: ۱۱۸-۱۱۰.
- غفاری، ح. و تدین، م. ر. (۱۳۹۸) اثر پیش‌تیمار بذر با اسید جاسمونیک بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر چغندرقد تحت تنش خشکی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۲: ۱۲۷۳-۱۲۶۳.
- قادری‌فر، ف. و سلطانی، ا. (۱۳۹۷) کنترل و گواهی بذر. جلد ۴، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد.
- قنبری، م. و کرم‌نیا، س. (۱۳۹۵) ارزیابی تأثیر پیری بذر بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*) توده بومی استان گیلان تحت شرایط تنش شوری. ششمین همایش ملی حبوبات ایران، خرم‌آباد.
- قنبری، م.، مختصی بیدگلی، ع.، طالبی سیه‌سران، پ. و پیرانی، ح. (۱۳۹۸) تأثیر پیری بذر بر جوانه‌زنی و فعالیت‌های آنزیمی لوبیا (*Phaseolus vulgaris L.*) تحت شرایط تنش شوری. تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۲: ۵۸۵-۵۹۴.
- کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۹۷) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان، جهاد دانشگاهی واحد مشهد، مشهد.
- کبیری، ر.، نقی‌زاده، م. و دلفانی، م. (۱۴۰۰) اثر پیش‌تیمار سدیم نیتروپروساید بر بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه سیاهدانه (*Nigella sativa*) تحت تنش شوری. علوم و تحقیقات بذر ایران ۸: ۱۹۴-۱۷۷.
- محمدیان، ا.، کیانمهر، ه.، عطایی سماق، ح.، آزاد نفس مهجور، ن.، صفری، ف. و صفرزاده، ا. (۱۳۹۷) تأثیر پیش‌تیمار متیل جاسمونات بر شاخص‌های جوانه‌زنی و ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهچه استویا (*Stevia rebaudiana*) تحت تنش شوری. پژوهش‌های بذر ایران ۵: ۱۰۱-۱۱۷.
- مرادی، ل. و سیدشریفی، ر. (۱۳۹۹) تأثیر تنش شوری و تلقیح بذر با کودهای زیستی بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی، محتوای سدیم و پتاسیم گیاهچه چاودار (*Secale cereal L.*). علوم و فناوری بذر ایران ۸: ۱۴۰-۱۲۷.

مزارعی، ا.، سیروس مهر، ع.، بروشکی، م.، بابایی، ز. و محمودی، ع. ا. (۱۳۹۸) اثر دور آبیاری و محلول پاشی کیتوزان بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پنیرک معمولی (*Malva sylvestris* L.). زیست‌شناسی گیاهی ایران ۱۱: ۱۰۲-۷۷.

ملک‌پور، ف.، سلیمی، ا. و پیربلوطی، ع. ق. (۱۳۹۵) تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کم آبی. مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی ۲۷: ۷۱-۵۶.

منصوری، ع. و امید، ح. (۱۳۹۷) تأثیر نانوذرات کیتوزان و نیترات پتاسیم بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک گیاهچه کینوا (*Chenopodium quinoa*). پژوهش‌های بذر ایران ۱: ۱۵۹-۱۴۷.

منصوری گندمانی، و.، امید، ح. و رضایی چرمهینی، م. (۱۳۹۵) بررسی کاربرد کیتوزان بر جوانه‌زنی سویا (*Glycine max* L.) در شرایط تنش شوری. مجله پژوهش بذر ایران ۳: ۱۷۷-۱۷۳.

موسوی، ع. س.، نعیمی، م.، قلیزاده، ع.، راحمی، ع. (۱۴۰۰) بررسی اثر الیسیتورها بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک، درصد و عملکرد اسانس زوفا (*Hyssopus officinalis* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری. فصلنامه تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۱۴: ۴۲۴-۴۱۵.

Abdalla, M. M. (2011) Beneficial effects of diatomite on the growth, the biochemical contents and polymorphic DNA in *Lupinus albus* plants grown under water stress. Agriculture and Biology Journal of North America 2: 207-220.

Abdallah, M. M. S., Ramadan, A., El-Bassiouny, H. M. S. and Bakry, B. A. (2020) Regulation of antioxidant system in wheat cultivars by using chitosan or salicylic acid to improve growth and yield under salinity stress. Asian Journal of Plant Sciences 19: 114-126.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymol 105: 121-126.

Amborabe, B. E., Bonmort, J., Fleurat-Lessard, P. and Roblin, G. (2008) Early events induced by chitosan on plant cells. Journal of Experimental Botany 59: 2317-324.

Arzani, A. and Ashraf, M. (2016) Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants. Critical Reviews in Plant Sciences 35: 146-189.

Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sciences 166: 3-16.

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

Becerra-Vazquez, A. G., Coates, R. and Sanchez-Nieto, S. (2020) Effects of seed priming on germination and seedling growth of desiccation-sensitive seeds from Mexican tropical rainforest. Journal of Plant Research 133: 855-872.

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

Boonlertnirun, S., Sarobol, E. and Sooksathan, I. (2006) Effects of molecular weight of chitosan on yield potential of rice cultivar Suphan Buri 1. Kasetsart Journal 40: 854-861.

Bose, B., Kumar, M., Singhal, R. K. and Mondal, S. (2018) Impact of seed priming on the modulation of physico-chemical and molecular processes during germination, growth, and development of crops. In: Advances in Seed Priming (eds. Rakshit, A. and Singh, H. B.) Pp. 23-40. Springer, Singapore.

Brançalion, P. H. S., Novembre, D. L. C., Rodrigues, R. R. and Tay, D. (2008) Priming of *Mimosa bimucronata* seeds: A tropical tree species from Brazil. Acta Horticulturae 82: 163-168.

Cho, M. H., No, H. K. and Prinyawiwatkul, W. (2008) Chitosan treatments affect growth and the selected quality of sunflower sprouts. Journal of Food Science 73: 570-577.

Chojnowski, F. C. and Come, D. (1997) Physiological and biochemical changes induced in sunflower seeds by osmopriming and subsequent drying, storage and aging. Seed Science Research 7: 323-331.

Choudhary, R. C., Kumaraswamy, R. V., Kumari, S., Sharma, S. S. and Pal, A. (2017) Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.). Scientific Reports 7: 9754-9765.

Chunthaburee, S., Dongsansuk, A., Sanitchon, J., Pattanagul, W. and Theerakulpisut, P. (2016) Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage. Saudi Journal of Biological Sciences 23: 467-477.

Demir Kaya, M., Okcu, G., Atak, M. A. and Kolsarici, O. (2006) Seed treatment to overcome salt drought stress during germination in sunflower. European Journal of Agronomy 24: 291-295.

- Demirevska, K., Zasheva, D., Dimitrov, R., Simova-Stoilova, L., Stamenova, M. and Feller, U. (2009) Drought stress effects on rubisco in wheat: changes in the rubisco large subunit. *Acta Physiologiae Plantarum* 31: 1113-1129.
- Duman, I. (2006) Effect of seed priming with PEG and K_3PO_4 on germination and seedling growth in lettuce. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 9: 923-928.
- El-Bassiouny, H. M. S., Bakry, A. B., Taha, M. H. and Younis, A. S. M. (2019) Alleviation of salt stress and improve crop productivity by using arbuscular mycorrhiza and ZnO-nano or bulk particles in wheat. *Plant Archives* 19: 205-214.
- Ellis, R. H. and Roberts, E. H. (1980) Towards a rational basis for testing seed quality. In: *Researching the Seed Production* (ed. Hebblethwaite, P. D.) Pp. 605-635. Butterworth's, London.
- Fan, W., Sun, J., Chen, Y., Qiu, J., Zhang, Y. and Chim, Y. (2009) Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. *Food Chemistry* 115: 66-70.
- Farooq, M., Basra, S. M. and Ahmad, A. N. (2007) Improving the performance of transplanted rice by seed priming. *Plant Growth Regulation* 51: 129-137.
- Farouk, S., Ramadan, A. A. and Showler, A. T. (2013) Chitosan effects on physiochemical indicators of drought-induced leaf stress in cowpea. *Plant Knowledge Journal* 2: 135-144.
- Feghhenabi, F., Hadi, H., Khodaverdilo, H. and Van Genuchten, M. T. (2020) Seed priming alleviated salinity stress during germination and emergence of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agricultural Water Management* 231: 106022.
- Foti, R., Abureni, K., Tigere, A., Gotosa, J. and Gere, J. (2008) The efficacy of different seed priming osmotica on the establishment of maize (*Zea mays* L.) caryopses. *Journal of Arid Environments* 72: 1127-1130.
- Ghalavand, F., Lotfi Jalal-Abadi, A., Mashhadi Siadat, S. A. and Kochekezadeh, A. (2022) The effect of different priming methods on seeds and seedlings of *Lallemantia* under salt stress. *Journal of Plant Process and Function* 10: 1-10.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Sueroxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Journal of Plant Physiology* 59: 309-314.
- Haghighi, M., Afifipour, Z. and Mozafarian, M. (2012) The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. *Journal of Biological and Environmental Sciences* 6: 87-90.
- Harish Prashanth, K. V., Dharmesh, K. S., Jagannatha, R. and Tharanathan, R. N. (2007) Free radical-induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. *Carbohydrat* 342: 190-195.
- Hawrylak-Nowak, B., Rubinowska, K., Molas, J., Woch, W., Matraszek-Gawron, R. and Szczurowska, A. (2019) Selenium-induced improvements in the ornamental value and salt stress resistance of *Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br. *Folia Horticultureae* 31: 213-221.
- Isayenkov, S. (2012) Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytology and Genetics* volume 46: 302-318.
- Ismail, A. M. and Horie, T. (2017) Genomics, Physiology, and Molecular Breeding Approaches for Improving Salt Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 68: 405-434.
- ISTA. (2012) *International Rules for Seed Testing*. Bassersdorf, Switzerland: The International Seed Testing Association (ISTA).
- Jabeen, N. and Ahmed, M. (2009) Possible allelopathic effects of three different weeds on germination and growth of maize (*Zea mays*) cultivars. *Pakistan Journal of Botany* 41: 1677-1683.
- Kaur, M., Gupta, A. K. and Zhawar, V. K. (2014) Antioxidant response and Lea genes expression under exogenous ABA and water deficit stress in wheat cultivars contrasting in drought tolerance. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* 23: 18-30.
- Kaur, S., Gupta, A. K. and Kaur, N. (2005) Seed priming increase crop yield possibly by modulating enzymes of sucrose metabolism in chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science* 191: 81-87.
- Kheirizadeh Arough, Y. and Seyed Sharifi, R. (2016) Bio fertilizers and zinc effects on some physiological parameters of triticale under water-limitation condition. *Journal of Plant Interactions* 11: 167-177.
- Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y. and Hoque, M. A. (2017) Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. *Rice Science* 24: 155-162.
- Konuskan, O., Gozubenli, H., Atis, I. and Atak, M. (2017) Effects of salinity stress on emergence and seedling growth parameters of some maize genotypes (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology* 5: 1668-1672.
- Krupa-Malkiewicz, M. and Fornal, N. (2018) Application of chitosan in vitro to minimize the adverse effects of salinity in *Petunia×atkinsiana* D. don. *Journal of Ecological Engineering* 19: 143-149.
- Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongprommek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchanwan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T. (2008) Effect of chitosan on floral production, gene expression and anatomical changes in the *Dendrobium orchid*. *Scientia Horticulturae* 116: 65-72.

- Liu, H., Tian, W. X., Li, B., Wu, G. X., Ibrahim, M., Tao, Z. Y., Wang, Y. L., Xie, G. L., Li, H. Y. and Sun, G. C. (2012) Antifungal effect and mechanism of chitosan against the rice sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Biotechnology Letters* 34: 2291-2298.
- MacAdam, J. W., Nelson, R. and Sharp, E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physiology* 99: 872-878.
- Mahdavi, B. and Rahimi, A. (2013) Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of Ajowan (*Carum copticum*) under salt stress. *Eurasian Journal of Biosciences* 7: 69-76.
- Malash, N. M., Flowers, T. J. and Ragab, R. (2008) Effect of irrigation methods, management and salinity of irrigation water on tomato yield, soil moisture and salinity distribution. *Irrigation Science* 26: 313-323.
- Malerba, M. and Cerana, R. (2016) Chitosan effects on plant systems. A review. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 996.
- Mccue, K. F. and Hanson, A. D. (1990) Drought and salt tolerance: Towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* 8: 358-362.
- Mekawy, A. M. M., Assaha, D. V. M., Yahagi, H., Tada, Y., Ueda, A. and Saneoka, H. (2015) Growth, physiological adaptation, and gene expression analysis of two Egyptian rice cultivars under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 87: 17-25.
- Meneguzzo, S., Navari-Izz, F. and Izzo, R. (2000) NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedling. *Journal of Plant Physiology* 156: 711-716.
- Nabiollahi, K., Taghi zadeh-Mehrjardi, R., Kerry, R. and Moradian, S. (2017) Assessment of soil quality indices for salt-affected agricultural land in Kurdistan Province. *Ecological Indicators* 83: 482-494.
- Nandi, S., Das, G. and Sen-Mandi, S. (1995) β -amylase activity as an index for germination potential in rice. *Annals of Botany* 75: 463-467.
- Paparella, S., Araujo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. (2015) Seed priming: State of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports* 34: 1281-1293.
- Park, P. J., Je, J. Y. and Kim, S. K. (2004) Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers* 55: 17-22.
- Prashanth, K. V. H., Dharmesh, S. M., Rao, K. S. J. and Tharanathan, R. N. (2007) Free radical induced chitosan depolymerized products protect calf thymus DNA from oxidative damage. *Carbohydrate Research* 342: 190-195.
- Pullen, J. and Saeed, K. (2012) An overview of biodiesel oxidation stability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16: 5924-5950.
- Rawson, H. M., Iong, M. J. and Munns, R. (1988) Growth and development in NaCl treated plants. *Journal of Plant Physiology* 15: 519-527.
- Ruan, S. L. and Xue, Q. Z. (2002) Effects of chitosan coating on seed germination and salt tolerance of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Agronomica Sinica* 28: 803-808.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
- Sarkar, P. K., Kumar, P. R., Singh, A. K. and Bhatt, B. P. (2020) Effect of priming treatment on seed germination and seedling growth in bamboo [*Dendrocalamus strictus* (Roxb.) Nees]. *Acta Ecologica Sinica* 40: 128-133.
- Skott, S. J., James, R. A. and Williams, W. A. (1984) Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science* 24: 1192-1199.
- Sen, S. K. and Mandal, P. (2016) Solid matrix priming with chitosan enhances seed germination and seedling invigoration in mung bean under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture* 17: 749-762.
- 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 mays* L. under salt stress condition. *Iranian Journal of Plant Physiology* 9: 2661-2670.
- Sheikhalipour, M., Esmailpour, B., Behnamian, M., Gohari, G., Giglou, M. T., Vachova, P., Rastogi, A., Brestic, M. and Skalicky, M. (2021) Chitosan-Selenium Nanoparticle (Cs-Se NP) foliar spray alleviates salt stress in Bitter Melon. *Nanomaterials* 11: 684.
- Sivritepe, H. O., Sivritepe, N. and Eris, A. (2003) The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae* 97: 229-237.
- Srinivasan, D., Nathan, S., Suresh, T. and Perumalsamy, P. L. (2001) Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 74: 217-220.
- Suchada, B., Meechouib, S. and Sarobol, E. (2010) Physiological and morphological responses of field corn seedlings to chitosan under hypoxic conditions. *Science Asia* 36: 89-93.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P. and Donald, G. M. C. (2011) Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* 62: 2189-2203.

- Toscano, S., Trivellini, A., Cocetta, G., Bulgari, R., Francini, A., Romano, D. and Ferrante, A. (2019) Effect of preharvest abiotic stresses on the accumulation of bioactive compounds in horticultural produce. *Frontiers in Plant Science* 10: 1-17.
- Tuncturk, M., Tuncturk, R., Yildirim, B. and Ciftci, V. (2011) Changes of micronutrients, dry weight and plant development in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under salt stress. *African Journal of Biotechnology* 10: 3726-3730.
- Uthairatanakij, A., Jaime, A. and Obsuwan, K. (2007) Chitosan for improving orchid production and quality. *Orchid Science and Biotechnology* 1: 1-5.
- Varier, A., Kuriakose, A. and Dadlani, M. (2010) The subcellular basis of seed priming. *Current Science* 99: 450-456.
- Waseem, S., Hamid, M., Ishrat, N., Waqas, K. K., Haroon, A., Saqib, H. and Atif, K. (2010) Pharmacognostical study of the medicinal plant *Calendula officinalis* L. (Family Compositae). *International Journal of Cell and Molecular Biology* 1: 108-116.
- Wei, S., Zang, X. M., Xue, J. P. and Xiang, G. (2007) Effect of chitosan on seeds germination and seedling physiological property of wheat. *Periodicals Journal of Biology* 24: 51-53.
- Yen, M. T., Yang, J. H. and Mau, J. L. (2008) Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrat* 74: 840-844.
- Zayed, M. M., Elkafafi, S. H., Amina, M. G. Z., Sherifa, F. and Dawoud, M. (2017) Effect of nano chitosan on growth, physiological and biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* under Salt Stress. *International Journal of Plant Production* 8: 577-585.
- Zhong, W., Xie, C., Hu, D., Pu, S., Xiong, X., Ma, J., Sun, L., Huang, Z., Jiang, M. and Li, X. (2020) Effect of 24-epibrassinolide on reactive oxygen species and antioxidative defense systems in tall fescue plants under lead stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 187: 109831.

The effect of seed priming with chitosan on germination characteristics and activity of antioxidant enzymes in rice seedlings (*Oryza Sativa* L.) under salinity stress

Haniyeh Saadat¹, Elias Soltani^{2*}, Mohammad Sedghi³

¹ Ph.D. Student of Ecology, Faculty of Agriculture and Natural, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran

² Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran

³ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran

(Received: 25/05/2022, Accepted: 22/11/2022)

Abstract

In order to investigate the effect of seed priming with chitosan on germination characteristics and activity of antioxidant enzymes in rice seedlings under salinity stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications at the Mohaghegh Ardabil University in 2022. Treatments included four salinity levels (0, 50, 100 and 150 mM) and four chitosan levels (0, 0.25, 0.50 and 0.75% by weight-volume, all of which were dissolved in 1% acetic acid). The results showed that salinity stress reduced germination rate (GR), germination percentage (GP), radicle, pedicel and seedling length (RL, PL and SL), radicle and pedicel fresh and dry weight (RFW, PFW, RDW and PDW), seedling length and weight vigor index (SLVI and SWVI). But, seed pretreatment with chitosan reduced the effect of salinity and improved these traits. However, the comparison of the means showed that there was a significant difference between the levels of chitosan, so that the highest number of traits obtained from the use of chitosan was 0.75%, and the lowest was obtained without chitosan. Salinity increased the Mean Germination Time (MGT), so that the highest was observed at (0.366 day) salinity of 150 mM and the lowest at 0.75% chitosan (0.101 day) and the highest allometry coefficient (AC) (0.452) was observed in priming with chitosan 25% and salinity of 150 mM. The activity of Catalase (CAT), Peroxidase (POX) and superoxide dismutase (SOD) in priming with chitosan 0.75% and salinity of 150 mM were the application 40, 35 and 31% higher than the control (distilled water) and without salinity, respectively. Salinity also reduces the activity of the enzyme amylase. Thus, the lowest amylase ($6.400 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW min}^{-1}$) was obtained in the control (distilled water) and salinity of 150 mM. The results showed that chitosan by stimulating antioxidant enzymes and neutralizing free radicals can reduce the harmful effects of salinity stress on some traits in rice seedlings and improve seedling growth.

Keywords: Chitosan, Hidro Priming, Priming, Rice, Sodium chloride

Corresponding author, Email: elias.soltani@ut.ac.ir