به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۲۹۵-۲۸۳

بررسی کاربرد کیتوزان بر صفات جوانه‌زنی دو رقم بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.)

عذرا سادات خاتمیان[۱]، سید علی‌محمد مدرس ثانوی*[۲]، بتول مهدوی[۳]، سید علی علوی اصل[۴] و یونس شرقی[۵]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲. استاد گروه زراعت، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر (عج)، رفسنجان، کرمان، ایران.
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور واحد کرج، البرز، ایران.
۵. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلام‌شهر، تهران، ایران.

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۷/۰۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۱۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر کیتوزان با غلظت‌های ۰/۵ (C_1)، ۰/۱ (C_2)، ۰/۰۵ (C_3) و ۰/۰۱ (C_4) درصد وزنی، شاهد آب (C_5) و شاهد اسید استیک (C_6) بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک جوانه‌زنی دو رقم 'بومی' (V_1) و 'اصلاح‌شدهٔ SZK-1' (V_2) گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.)، تحقیق حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ژرمیناتور آزمایشگاه زراعت دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. اثر متقابل تیمارهای آزمایشی تأثیر معناداری بر طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز دارد. C_2V_2 و C_6V_1 با اختلاف ۱/۵۲ میلی‌متر بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه را نشان دادند. همچنین C_2 مقدار پروتئین رقم 'بومی' را نسبت به C_5 افزود. غلظت‌های زیاد کیتوزان (C_1 و C_2) توانست فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رقم 'اصلاح‌شده' را نسبت به C_5 افزایش دهد. ازاین‌رو کیتوزان می‌تواند برخی خصوصیات جوانه‌زنی ارقام بادرشبی را افزایش دهد که در این میان، رقم 'اصلاح‌شده' واکنش بهتری به این مادهٔ آلی نشان داد.

کلیدواژه‌ها: جوانه‌زنی، رقم بومی، ریشه‌چه، ساقه‌چه، سوپراکسید دسموتاز.

* نویسنده مسئول
Email: modaresa@modares.ac.ir

۱. مقدمه

عوارض جانبی داروهای شیمیایی و تمایل بشر به استفادهٔ هرچه بیشتر از محصولات طبیعی به‌منظور حفظ سلامت خویش و همچنین مشکلات سیستم دارویی مدرن، سبب توجه هرچه بیشتر بشر به گیاهان دارویی شده است [۲۷]. یکی از بحرانی‌ترین مراحل زندگی گیاهان زراعی مرحلهٔ جوانه‌زنی و سبز شدن است، زیرا در این مرحله، بذر در معرض بسیاری از عوامل نامساعد محیطی قرار دارد و استقرار بوته در مزرعه دچار مشکل می‌شود [۱۰]. از طرف دیگر، ناتوانی اغلب گیاهان دارویی در جوانه‌زنی مناسب در مزرعه، کشت و سرمایه‌گذاری برای کشت این گیاهان را دشوار ساخته است. بادرشبی[1] که در انگلیسی به آن مولداویان بالم[2] یا دراگون هد[3] گفته می‌شود، گیاهی علفی و یکساله از تیرهٔ نعناع و جنس دراکوسفالوم است [۲]. ترکیبات اصلی اسانس بادرشبی شامل ژرانیال[4]، نرال[5]، ژرانیل استات[6] و ژرانیول[7] است. این ترکیبات مونوترپن‌های حلقوی اکسیژن‌دار[8] هستند و ۹۰ درصد اسانس را تشکیل می‌دهند [۳۳]. همچنین این گیاه دارویی از اهمیت زیادی در ایران به‌ویژه در استان آذربایجان غربی و شرقی برخوردار است.

کیتوزان، نوعی پلی‌ساکارید گلوکوزامین است که از کیتین مشتق شده است. به‌طور معمول کیتوزان به کیتینی که بیش از ۵۰ درصد گروه‌های استیل آن حذف شده باشد، گفته می‌شود [۲۲]. در کشاورزی کیتوزان به‌صورت پوشش بذر، برگ و میوه استفاده می‌شود [۱۴]. همچنین به‌عنوان کود و در کنترل آزادسازی مواد مغذی مورد نیاز گیاه [۳۰]، و محافظت گیاهان در مقابل میکروارگانیسم‌ها به‌کار می‌رود [۲۶] و سبب جوانه زدن و رشد سریع گیاه می‌شود و از گیاه در برابر ارگانیزم‌های فتوژنیک، ویروس‌ها و میکروب‌ها محافظت می‌کند [۲۱]. اعمال تیمار کیتوزان با غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور ارکیده به بیش از ۷۷ درصد بعد از شش هفته شد، درحالی که در شرایط عدم اعمال تیمار، درصد جوانه‌زنی ۳/۷ درصد بود [۱۸]. در همین تحقیق، الیگومر ۷۰ کیتوزان با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و الیگومر ۸۰ با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر تعداد بذور جوانه‌زده داشتند و بعضی سطوح کیتوزان (به‌ویژه پلیمر ۷۰) در غلظت‌های زیاد (۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) تأثیرات منفی بر رشد گیاهچه نشان دادند.

زمانی‌که بحث کشت‌وکار گستردهٔ یک محصول درنظر باشد، تکثیر از طریق بذر به‌واسطهٔ اقتصادی و کاربردی بودن و نیز سهولت استفاده، بر روش تکثیر رویشی برتری خواهد داشت [۱]. ازاین‌رو هدف پژوهش حاضر، استفاده از کیتوزان به‌منظور افزایش خصوصیات جوانه‌زنی گیاه بادرشبی و همچنین پیشنهاد رقمی است که خصوصیات جوانه‌زنی بیشتری داشته باشد و به این مادهٔ آلی واکنش مطلوب‌تری نشان دهد تا بتوان از این طریق جوانه‌زنی و رشد این گیاه دارویی را بهبود داد و به کشت گستردهٔ آن کمک کرد.

۲. مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کیتوزان با غلظت‌های ۰/۵ (C_1)، ۰/۱ (C_2)، ۰/۰۵ (C_3) و ۰/۰۱ (C_4) درصد وزنی، شاهد آب (C_5) و شاهد اسید استیک (C_6) بر صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک جوانه‌زنی دو رقم 'بومی' (V_1) و 'اصلاح‌شده SZK-1' (V_2) گیاه دارویی بادرشبی تحقیق حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در

1. *Dracocephalum moldavica* L.
2. Moldavian balm
3. Dragonhead
4. Geranial
5. Neral
6. Geranyl acetate
7. Geraniol
8. Oxygenated acyclic monoterpenes

ژرمیناتور آزمایشگاه زراعت دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی در این آزمایش شامل کیتوزان با غلظت‌های ۰/۵، ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد وزنی محلول در اسید استیک ۱ درصد، شاهد آب و شاهد اسید استیک ۱ درصد (این ماده حلال کیتوزان است و ممکن است جداگانه بر صفات مورد بررسی اثرگذار باشد) و فاکتور رقم در دو سطح رقم 'بومی' (تهیه‌شده از شهرستان ارومیه) و رقم 'اصلاح‌شدهٔ SZK-1' (تهیه‌شده از شرکت دارویی زردبند) بود. کیتوزان مورد استفاده در این تحقیق پودری با رنگ زرد روشن، وزن مولکولی ۳۰۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰۰، فرمول شیمیایی $(C_6 H_{11} NO_4)n$، غیرقابل حل در آب و قابل حل در اسید استیک ۱ درصد و ساخت شرکت آکروس[1] آمریکا بود.

نام شیمیایی این ماده Poly(beta-(1,4)-D- ,chitosan glucosamine) و Poly(beta-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose) است.

قوهٔ نامیهٔ بذرها قبل از شروع آزمایش تعیین شد و پتری‌دیش‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت و بذرها به‌مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلرید سدیم ضدعفونی شدند. ۳۰ بذر در هر پتری‌دیش ضدعفونی‌شده (واحد آزمایشی) با قطر ۱۱ سانتی‌متر قرار داده شد. محلول‌های ساخته‌شده از کیتوزان و آب مقطر (شاهد) و شاهد اسید استیک به پتری‌دیش‌های مورد نظر به‌اندازهٔ کافی اضافه شد، به‌طوری که بذرها کاملاً خیس شوند، ولی در محلول غوطه‌ور نشوند. سپس پتری‌دیش‌ها به‌مدت ۲۰ روز (با توجه به تست جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی بعد از ۲۰ روز ثابت شد) داخل ژرمیناتور با دمای متناوب ۲۰/۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد، نور، تاریکی ۱۶/۸ ساعت (تاریکی/ روشنایی، با شدت ۳۰۰۰ لوکس) و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد قرار گرفتند. زمان شروع جوانه زدن، خروج ریشه‌چه به‌اندازهٔ دو میلی‌متر از پوستهٔ بذر درنظر گرفته شد. پس از خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه از پوستهٔ بذر، طول آنها اندازه‌گیری شد [۲۵]. فرمول‌های زیر برای محاسبهٔ درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی استفاده شد:

(۱)

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = n/N \times ۱۰۰$$

(۲)

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = n_1/D_1 + n_2/D_2 + \ldots + n_n/D_n$$

در این رابطه‌ها، n تعداد بذرهای جوانه‌زده؛ D روز مورد بررسی؛ و N تعداد کل بذرهاست [۱۵].

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌روش پاندولفینی و همکاران انجام گرفت [۲۳]، بدین‌صورت که ۰/۲ گرم از بافت تازهٔ گیاهچه در نیتروژن مایع ساییده و در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار، با pH = ۶/۸ در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد عصاره‌گیری شد. عصارهٔ حاصل سانتریفیوژ شده و جذب نوری در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌روش جیانو پولیتیز و ریز صورت گرفت [۱۶]. مخلوط واکنش حاوی ۵۰ HEPES-KOH میلی‌مولار بافر با اسیدیتهٔ ۷/۸ حاوی ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیتهٔ ۱۰/۲، L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، Nitro Blue Tetrazolium ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین یک میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار داده شدند و پس از این مدت، جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. همچنین از یک لولهٔ آزمایش حاوی مخلوط واکنش به‌جز عصارهٔ آنزیمی به‌عنوان شاهد استفاده شد. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان مقدار آنزیمی درنظر گرفته شد که به مهار ۵۰ درصد احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم منجر می‌شود. مقدار پروتئین گیاهچه‌ها

1 . Acros

نیز به‌روش برادفورد تعیین شد [۱۱]. بدین منظور، ۱ میلی‌لیتر از محلول برادفورد به‌همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی پس از گذشت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت و جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت شد. غلظت پروتئین گیاهچه برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد. اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز شد و میانگین‌ها نیز با استفاده از روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد.

۳. نتایج و بحث

با توجه به نتایج حاصل، اثر رقم بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه (در سطح ۱ درصد) و فعالیت آنزیم پراکسیداز (در سطح ۵ درصد) معنادار شد (جدول‌های ۱ و ۲). همچنین تیمار غلظت بر همهٔ صفات مورد مطالعه به‌جز فعالیت آنزیم پراکسیداز تأثیر بسیار معناداری داشت و اثر متقابل تیمارهای آزمایشی بر طول ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنادار شد.

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس صفات جوانه‌زنی بذور بادرشبی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات					
		درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک ریشه‌چه	وزن خشک ساقه‌چه
رقم (A)	۱	۱۴۸۲/۲۵۰**	۰/۰۰۳۶^{ns}	۰/۲۳۲۳**	۰/۲۵۱۶^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۹^{ns}	۰/۰۰۱۹**
غلظت (B)	۵	۳۰۴/۶۹۴**	۰/۰۰۵۷**	۰/۶۷۰۶**	۰/۸۱۵۴**	۰/۰۰۰۰۰۲۶**	۰/۰۰۲۳**
A×B	۵	۷۴/۱۱۶^{ns}	۰/۰۰۱۶^{ns}	۰/۵۷۳۵**	۰/۳۸۱۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۰۲**
خطای آزمایشی	۲۴	۳۷/۳۰۵	۰/۰۰۰۹	۰/۳۵	۰/۱۴۸۶	۰/۰۰۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۴

ns، * و ** : به‌ترتیب غیر معنادار، معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس صفات فیزیولوژیک گیاهچهٔ بادرشبی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات		
		مقدار پروتئین	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
رقم (A)	۱	۰/۰۱۲۱^{ns}	۱۶۸۰۹/۱۲*	۴۸۱/۸۰۲^{ns}
غلظت (B)	۵	۰/۰۳۶۴**	۴۷۶۷/۴۷^{ns}	۷۵۲۱۷۴/۴۷**
A×B	۵	۰/۰۳۱۷**	۱۷۱۱/۳۱^{ns}	۱۷۳۱۴۵/۷۵**
خطای آزمایشی	۲۴	۰/۰۰۷	۳۶۶۷/۷۲	۳۲۹۵۹/۰۷۲

ns ، * و ** : به‌ترتیب غیرمعنادار، معنادار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

۳. ۱. درصد جوانه‌زنی

کیتوزان ۰/۱ درصد و شاهد آب با اختلاف ۱۸/۵ درصد به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). رقم 'اصلاح‌شده' با اختلاف معناداری نسبت به رقم 'بومی' از درصد جوانه‌زنی بیشتری برخوردار بود (جدول ۴). نتایج مشابهی نیز در مورد اثربخشی کیتوزان بر جوانه‌زنی گیاهان زراعی برنج و سویا مشاهده شد [۲۸، ۳۶]. در تحقیق حاضر، بین سطوح مختلف کیتوزان از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف معناداری مشاهده نشد. طی یک بررسی روی گلرنگ مشخص شد که بیشترین درصد جوانه‌زنی در بذرهای آغشته به کیتوزان ۰/۴ درصد است که مقادیر یکسانی با غلظت‌های ۰/۰۵ و ۱ درصد این تیمار داشت، اما در مقایسه با تیمار آب، درصد جوانه‌زنی بیشتری نشان داد [۷].

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین صفات جوانه‌زنی بذور گیاه بادرشبی در غلظت‌های مختلف کیتوزان

تیمار غلظت	درصد جوانه‌زنی (٪)	سرعت جوانه‌زنی (seed/day)	طول ساقه‌چه (mm)	وزن خشک ریشه‌چه (g)
کیتوزان ۰/۰۱ درصد	۷۷^{a}	۰/۳۴۴^{a}	۳/۰۷۵^{bcd}	۰/۰۰۴۴^{b}
کیتوزان ۰/۰۵ درصد	۷۸^{a}	۰/۳۵^{a}	۳/۱۲^{bc}	۰/۰۰۴۴^{b}
کیتوزان ۰/۱ درصد	۸۲/۶^{a}	۰/۳۷۱^{a}	۳/۳۹^{ab}	۰/۰۰۵۲^{a}
کیتوزان ۰/۵ درصد	۷۹^{a}	۰/۳۶۴^{a}	۳/۶۵۶^{a}	۰/۰۰۵۹^{a}
شاهد آب	۶۴/۱^{b}	۰/۲۹۵^{b}	۲/۶۳^{d}	۰/۰۰۴۲^{b}
شاهد اسید استیک	۶۸^{b}	۰/۳۰۶^{b}	۲/۸۴۳^{cd}	۰/۰۰۴۳^{b}

میانگین‌های هر ستون که با حروف مشابه نشان داده شده است، از نظر آماری تفاوت معناداری ندارند (P≤۰/۰۵).

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین درصد جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم پراکسیداز بذور ارقام گیاه بادرشبی

تیمار رقم	درصد جوانه‌زنی (٪)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (µmol/mgProtein)
رقم اصلاح‌شده	۸۱/۲۲۲^{a}	۲۵۵/۸۶^{a}
رقم بومی	۶۸/۳۸۹^{b}	۲۱۲/۶۴^{b}

میانگین‌های هر ستون که با حروف مشابه نشان داده شده است، از نظر آماری براساس آزمون LSD تفاوت معناداری ندارند (P≤۰/۰۵).

کیتوزان دارای خاصیت چسبندگی سطحی است و غشایی نفوذپذیر را روی بذر به‌وجود می‌آورد که موجب جلوگیری از هدر رفتن رطوبت بذر می‌شود و از طرف دیگر، به نگهداری رطوبت در اطراف بذر (خاک) کمک می‌کند که همین عامل سبب افزایش توان جوانه‌زنی بذر می‌شود [۳۶]. احتمالاً همین خاصیت سبب شد که در آزمایش حاضر بین سطوح غلظت کیتوزان اختلاف معناداری مشاهده نشود و به‌طور کلی، کیتوزان موجب افزایش درصد جوانه‌زنی شود. تحقیقات دربارهٔ گیاه دارویی گل گندم (با نام علمی *Centaurea cyanus* L.) نشان داد رقم اصلاح‌شدهٔ 'بال بلو' نسبت به رقم تودهٔ 'بومی' ایران، درصد جوانه‌زنی بیشتری دارد [۶]. در بررسی منابع گزارشی دربارهٔ خصوصیات جوانه‌زنی ارقام 'بومی' و اصلاح‌شدهٔ این گیاه دارویی دیده نشد و اکثر مطالعات در راستای بررسی خصوصیات زراعی و اسانس این گیاه دارویی بود.

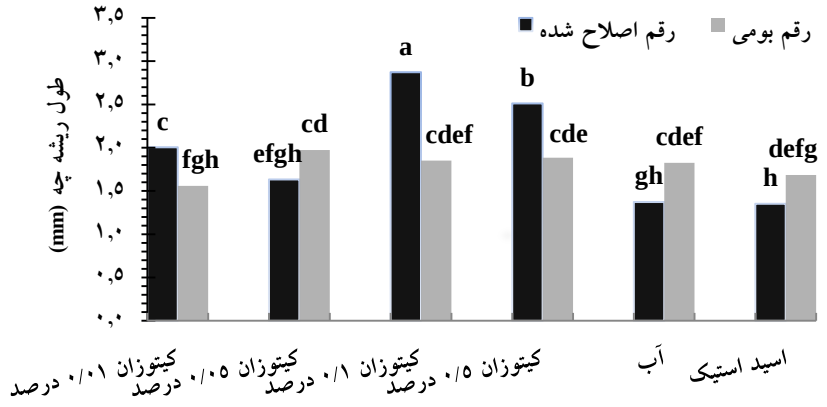
۳. ۲. سرعت جوانه‌زنی

سرعت جوانه‌زنی یکی از مهم‌ترین معیارهای جوانه‌زنی است و بذوری که سرعت جوانه‌زنی بیشتری داشته باشند، در مقابله با تنش‌های محیطی واکنش بهتری نشان می‌دهند و درنهایت گیاهچه‌های نیرومندتری تولید خواهند کرد [۵]. بیشترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به کیتوزان با غلظت ۰/۱ درصد وزنی بود که در مقایسه با شاهد آب مقادیر این صفت را ۰/۱۱۲ افزایش داد (جدول ۳). نتایج مشابهی در مورد بذور گل ارکیده گزارش شد [۱۸]. کیتوزان در غلظت‌های کم می‌تواند جوانه‌زنی بذرهای سویا را افزایش دهد، اما غلظت‌های زیاد آن ممکن است برای بذر سمی باشد [۱۹]. در تحقیق حاضر، بین سطوح مختلف کیتوزان از این نظر اختلاف معناداری وجود ندارد. در تحقیقی دربارهٔ گیاه دارویی زنیان[1] مشخص شد که سطوح مختلف کیتوزان بدون اختلاف معناداری نسبت به هم، سرعت جوانه‌زنی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند که با نتایج تحقیق حاضر از نظر سطوح مختلف کیتوزان مطابقت دارد [۲۰]. با توجه به اینکه بذور تیمارشده با کیتوزان خصوصیات (درصد و سرعت) جوانه‌زنی مطلوب‌تری دارند که همین موضوع به مقدار عملکرد کمک شایانی می‌کند [۳۶]، برای افزایش توان زراعی و بهبود عملکرد گیاه دارویی بادرشبی نیز می‌توان از پیش‌تیمار کیتوزان بهره برد. در آزمایشی بر روی بذور خیار و فلفل قرمز، کیتوزان توانست سرعت جوانه‌زنی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد [۱۲].

۳. ۳. طول ریشه‌چه

ارقام مورد بررسی از نظر طول ریشه‌چه واکنش‌های متفاوتی به غلظت‌های کیتوزان نشان دادند. تیمار کیتوزان ۰/۱ درصد و شاهد اسید استیک ۱ درصد بر رقم 'اصلاح‌شده' با اختلاف ۱/۳۱ میلی‌متر به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر این صفت را داشتند (شکل ۱). استفاده از کیتوزان ۰/۰۵ درصد روی رقم 'اصلاح‌شده' نسبت به شاهد آب و اسید استیک اثر معناداری بر این صفت نداشت، اما دیگر سطوح کیتوزان سبب افزایش طول ریشه‌چه شدند. در مورد گیاه ذرت، کاربرد کیتوزان می‌تواند مقادیر طول ریشه‌چه را نسبت به تیمار شاهد افزایش دهد [۱۷]. بررسی اثر کیتوزان بر خصوصیات جوانه‌زنی عدس، کاربرد ۳ گرم در لیتر از این مادهٔ آلی بیشترین مقادیر این صفت را نشان داد [۳۱]. استفاده از کیتوزان می‌تواند از سازوکارهای مهار رشد ریشه‌چه جلوگیری کرده و به‌طور مؤثری به رشد ریشه و افزایش قابلیت جذب آب در گیاه کمک کند [۳۵]. دیگر یافته‌ها دربارهٔ گیاه دارویی زنیان و بذور کلزا، با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۹، ۲۰].

1. *Carum copticum* L.



شکل ۱. اثر متقابل غلظت و رقم بر طول ریشه‌چهٔ گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.)

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری براساس آزمون LSD تفاوت معناداری ندارند (P≤۰/۰۵).

۳. ۴. طول ساقه‌چه

غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان و شاهد آب با اختلاف ۱/۰۲۶ میلی‌متر بیشترین و کمترین مقادیر این صفت را نشان دادند (جدول ۳). همچنین مشخص شد بین سطوح کیتوزان ۰/۵ و ۰/۱ درصد اختلاف معناداری وجود ندارد، اما دیگر سطوح کیتوزان و تیمار شاهد، مقادیر کمتری از طول ساقه‌چه را نسبت به کیتوزان ۰/۵ درصد وزنی نشان دادند. کاربرد کیتوزان سبب افزایش طول ساقه‌چه در گیاه ذرت می‌شود و همچنین کیتوزان می‌تواند شاخص جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه گیاه ذرت را به‌طور معناداری افزایش دهد [۱۷]. در یک بررسی در گیاه زراعی لوبیا، کاربرد کیتوزان، طول و وزن ساقه‌چه را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد [۱۵]. یکی از اثرهای کیتوزان بر گیاهان، افزایش مقادیر آب بافت (برگ، ساقه و ریشه) است که افزایش مقادیر آب سبب افزایش رشد اندام مورد نظر خواهد شد و احتمالاً یکی از دلایل رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه در تحقیق حاضر، همین موضوع است [۳۵]. همچنین در تحقیقی در گیاه دارویی گل‌گندم، اثر رقم بر طول ساقه‌چه و ریشه‌چهٔ ارقام 'اصلاح‌شده' و 'بومی' معنادار نبود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد [۶]. کیتوزان از طریق افزایش توان بذر در نگهداری و جذب آب قابل استفاده و همچنین از طریق تنظیم فشار اسمزی سلول برای تأمین مواد مغذی آن، به رشد اندام‌های رویشی گیاهان کمک می‌کند [۱۷].

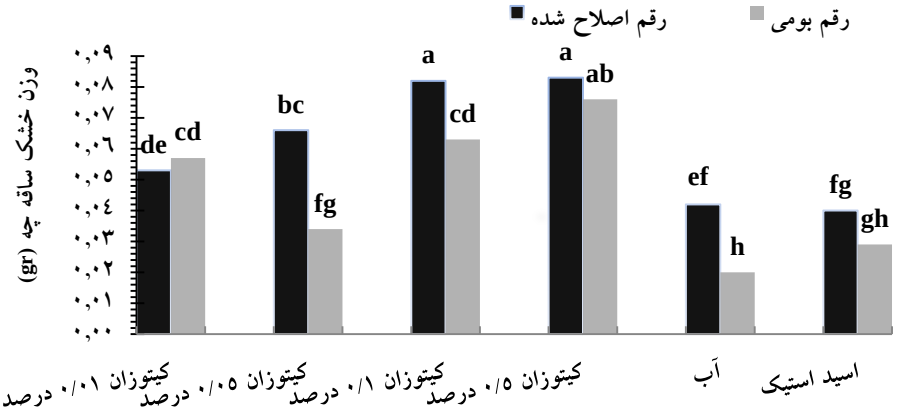
۳. ۵. وزن خشک ریشه‌چه

غلظت کیتوزان ۰/۵ درصد بیشترین وزن خشک ریشه‌چه را داشت و با کاهش غلظت کیتوزان به ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد از مقادیر این صفت به‌طور معناداری کاسته شد (جدول ۳). غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان بیشترین وزن خشک ریشه‌چه را در گیاه زراعی ذرت نشان داد و با کاهش غلظت به ۰/۲۵ درصد از مقادیر آن کاسته شد [۱۷]. در آزمایشی دیگر، غلظت ۰/۵ درصد کیتوزان در گیاه کلزا با اختلاف معناداری نسبت به دیگر سطوح از وزن خشک ریشه‌چهٔ بیشتری برخوردار بود [۲۹]. براساس مطالعات صورت‌گرفته، نحوهٔ اثر کیتوزان بر بذور گیاهان زراعی هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است [۲۰]. الیگوساکاریدها (کیتوزان) اثر ترکیبات فیتوهورمونی

(هورمون‌هایی که توسط نور فعال می‌شوند) را در ریخت‌زایی، و رشدونمو گیاهان دارند و همچنین کیتوزان سبب القای سازوکارهای دفاعی در گیاهان، تحریک رشد رویشی و تولید آنزیم‌های خاصی نظیر پسیتیناز و کیتیناز در مرحلهٔ جوانه‌زنی می‌شود که این امر در افزایش وزن خشک ریشه‌چه مؤثر است [۱۳].

۳. ۶. وزن خشک ساقه‌چه

تیمار کیتوزان ۰/۵ درصد اعمال‌شده بر رقم 'اصلاح‌شده' دارای بیشترین وزن خشک ساقه‌چه بود و بعد از آن، کیتوزان ۰/۱ درصد اعمال‌شده بر همین رقم بدون اختلاف معناداری قرار گرفت (شکل ۲). تحقیقات دربارهٔ اثر سطوح مختلف غلظت کیتوزان نشان داد که کیتوزان در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۱ نسبت به ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد، به‌طور معناداری از وزن خشک ساقه‌چهٔ بیشتری برخوردار بود و غلظت‌های کیتوزان ۰/۰۵ و ۰/۰۱ در رقم 'بومی' نسبت به شاهد آب و اسید استیک مقادیر بیشتری از این صفت را نشان داد که این امر می‌تواند نشان‌دهندهٔ افزایش وزن خشک ساقه‌چهٔ رقم 'اصلاح‌شده' نسبت به 'بومی' در شرایط کاربرد کیتوزان باشد. کاربرد کیتوزان نتایج مشابهی را بر وزن خشک ساقه‌چهٔ گیاه زراعی چغندرقند [۱۵] و سویا [۳۶] نشان داده است. بررسی اثر کیتوزان بر گیاه دارویی زنیان نشان داد کیتوزان ۰/۲ درصد می‌تواند وزن خشک ساقه‌چه را نسبت به تیمار شاهد ۱/۷ میلی‌گرم افزایش دهد [۲۰]. غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲۵ درصد کیتوزان وزن خشک ساقه‌چه را در لاین‌های ذرت افزایش داد که واکنش لاین‌ها به غلظت‌های کیتوزان متفاوت بود [۱۷]. ازآنجا که کیتوزان به‌عنوان محرک اندام‌زایی در جوانه‌زنی مطرح است [۳۵] یکی از مشکلات کنونی کشاورزان تنش‌های محیطی است [۱۵]، پیش‌تیمار کیتوزان می‌تواند از طریق افزایش رشد ریشه‌چه به افزایش توان جذب آب در مراحل اولیهٔ رشد کمک کند که این امر در نهایت به مقاومت گیاه در برابر بروز تنش‌های محیطی (به‌خصوص تنش کم‌آبی) بسیار کمک خواهد کرد.



شکل ۲. اثر متقابل غلظت و رقم بر وزن خشک ساقه‌چهٔ گیاه دارویی بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.).

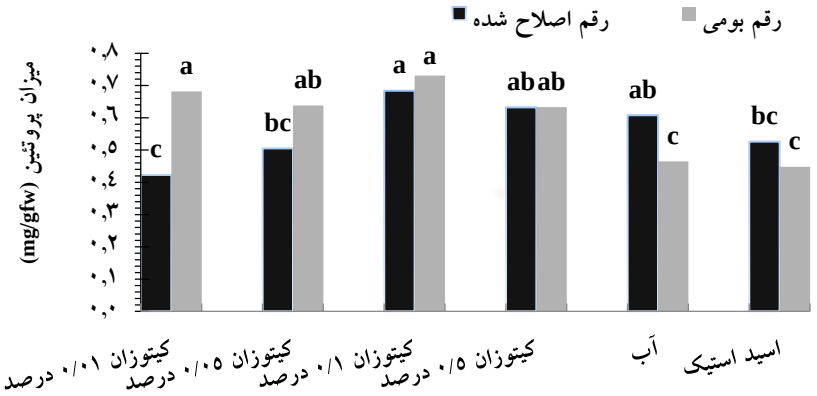
میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری براساس آزمون **LSD** تفاوت معناداری ندارند (**P≤۰/۰۵**).

۳. ۷. مقدار پروتئین

بیشترین مقدار پروتئین در شرایط کاربرد ۰/۱ درصد کیتوزان برای رقم 'بومی' به‌دست آمد که با مقدار پروتئین رقم 'اصلاح‌شده' در همین سطح از کیتوزان اختلاف معناداری نداشت (شکل ۳). بیشترین مقدار پروتئین گیاهچه‌های گلرنگ در غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان وجود دارد و بین سطوح مختلف کیتوزان از این نظر اختلاف معناداری مشاهده نشد [۷]. کیتوزان از طریق افزایش مقدار قندهای محلول و افزایش میزان فعالیت آنزیم پروتئاز سبب افزایش مقادیر پروتئین بذر و گیاه می‌شود [۳۴] که این امر در میزان مقاومت گیاهان تیمارشده با این مادهٔ آلی به قارچ‌های بیماری‌زا مؤثر است. در غلظت‌های زیاد کیتوزان (۰/۵ و ۰/۱ درصد) بین ارقام مورد بررسی اختلاف معناداری وجود نداشت، اما با کاهش غلظت به ۰/۰۱ درصد مقادیر این صفت بین ارقام به‌طور معناداری تحت تأثیر قرار گرفت، به‌نحوی که در سطح کیتوزان ۰/۰۱ درصد، رقم 'بومی' با اختلاف بیش از ۰/۲۵ میلی‌گرم در گرم بافت تازه نسبت به رقم 'اصلاح‌شده' از پروتئین بیشتری برخوردار بود. واکنش ارقام ارکیده به غلظت‌های مختلف کیتوزان از نظر برخی صفات مورفولوژیک جوانه‌زنی متفاوت است [۱۸].

۳. ۸. پراکسیداز

سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی یکی از سازوکارهای حفاظتی گیاهان در برابر تنش‌های محیطی است و گیاهانی که از سطوح بیشتری از آنتی‌اکسیدان‌ها برخوردار باشند، مقاومت بیشتری به آسیب‌های اکسیداتیو نشان می‌دهند. پراکسیداز یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های سلول است که در شرایط بروز تنش‌های محیطی سبب تبدیل مولکول مخرب H_2O_2 به آب و اکسیژن می‌شود [۳]. در بین ارقام مورد آزمایش، رقم 'اصلاح‌شده' با اختلاف ۴۳ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین نسبت به رقم 'بومی' از فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری برخوردار بود (جدول ۴). در آزمایشی بر روی ارقام مختلف گندم در شرایط تنش کم‌آبی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام 'اصلاح‌شده' نسبت به رقم 'بومی' بیشتر بود [۲]. همچنین ارقام مختلف نخود *Cicer arientinum* L.' واکنش متفاوتی به آنزیم پراکسیداز نشان می‌دهند، به‌نحوی که رقم 'ILC۴۸۲' نسبت به دو رقم دیگر ('بیونیج' و 'پیروز') مقادیر بیشتری از این آنزیم را داشت [۸].

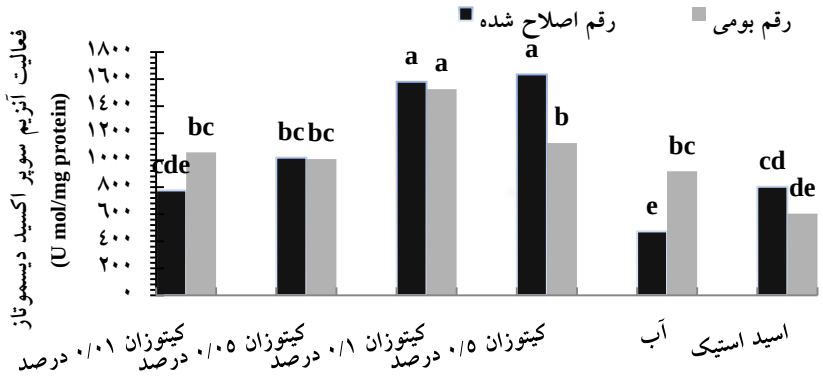


شکل ۳. اثر متقابل غلظت و رقم بر مقدار پروتئین گیاهچهٔ بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.)
میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری براساس آزمون LSD تفاوت معناداری ندارند (P≤۰/۰۵).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، سطوح مختلف کیتوزان اثر معناداری بر مقادیر این صفت نداشتند که نتایج مشابهی نیز در گیاه گلرنگ گزارش شد (جدول ۲) [۷]. سطوح مختلف کیتوزان بر مقدار پراکسیداز لاین نوترکیب 'HuangC' اثر معناداری نداشت، اما مقادیر این آنزیم را در لاین 'Mo17' تحت تأثیر قرار داد [۱۷].

۳. ۹. سوپراکسید دیسموتاز

کاربرد کیتوزان ۰/۵ درصد در رقم 'اصلاح‌شده'، بدون اختلاف معناداری نسبت به سطح ۰/۱ درصد کیتوزان در هر دو رقم آزمایشی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داد. کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با کاهش غلظت کیتوزان ادامه یافت و در دو سطح شاهد به کمترین حد خود رسید، به‌نحوی که اثر متقابل آب و رقم 'بومی' نسبت به کیتوزان ۰/۰۵ درصد در هر دو رقم آزمایشی برای صفت محتوای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اختلاف معناداری نداشت و میانگین به‌نسبت یکسانی داشت. دو سطح ۰/۱ و ۰/۵ درصد کیتوزان نسبت به کیتوزان ۰/۰۵ درصد با اختلاف معناداری از فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بیشتری برخوردار بودند و شاهد آب کمترین مقادیر این صفت را داشت (شکل ۴). سازوکار اثر کیتوزان برای افزایش آنزیم‌های گیاهی هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. کیتوزان در گیاه تأثیری مشابه ABA دارد یا در شرایط تنش در کنار افزایش سلول‌های اپیدرم برگ از طریق تولید NO و H_2O_2 و با تنظیم فشار اسمزی به افزایش حجم سلول‌های محافظ روزنه کمک می‌کند که در نهایت به کاهش قطر روزنه و کاهش تبخیر و تعرق گیاه منجر می‌شود [۳۴]. بررسی کاربرد مواد بهبوددهندهٔ جوانه‌زنی (نظیر اسید سالیسیلیک) روی بذر گندم نشان داد که این ماده سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌شود [۴]. در همین آزمایش مشخص شد که کاربرد اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار سبب افزایش فعالیت این آنزیم به‌مقدار ۸۲۷/۵ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین می‌شود. تأثیر الیسیتوری[1] کیتوزان و الیگومرهای آن در کشت سوسپانسیونی چندین گیاه اثبات شده است [۳۲، ۹]. همچنین آنتی‌اکسیدانت بودن کیتوزان کانون توجه بوده است [۲۴]. بنابراین کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان را می‌توان به تأثیر الیسیتوری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان در خنثی‌سازی مستقیم یون سوپراکسید دیسموتاز در این شرایط نسبت داد.



شکل ۴. اثر متقابل غلظت و رقم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گیاهچهٔ بادرشبی (*Dracocephalum moldavica* L.).

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری براساس آزمون LSD تفاوت معناداری ندارند (P≤۰/۰۵).

1. Elicitor

۴. نتیجه‌گیری

کاربرد کیتوزان در غلظت‌های مختلف می‌تواند مقادیر صفات جوانه‌زنی گیاهچه‌های بادرشبی را تغییر دهد و همچنین صفات مورفولوژیک این گیاه دارویی را افزایش دهد و مقادیر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را بهبود بخشد. ازاین‌رو استفاده از کیتوزان می‌تواند در شرایط وقوع تنش کم‌آبی با افزایش مقادیر آنزیم مذکور و همچنین طول ریشه‌چه سبب تعدیل شرایط تنش و خسارات ناشی از آن شود که با توجه به ضعف شاخص‌های جوانه‌زنی این گیاه دارویی چنین برمی‌آید که کاربرد کیتوزان می‌تواند کشت‌وکار این محصول را گسترش دهد. در این آزمایش مشخص شد که رقم 'اصلاح‌شده' خصوصیات جوانه‌زنی بهتری داشت و از نظر فیزیولوژیک، دارای مقادیر بیشتری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود.

منابع

۱. اسماعیلی ا، عیسوند ح ر، رضایی‌نژاد ع، سمیعی ک و ضابطی س م (۱۳۹۱) مطالعهٔ شاخص‌ها و خصوصیات جوانه‌زنی بذر و استقرار دانه‌رست گیاه دارویی مورد (*Myrtus communis* L.). دانشگاه علوم پزشکی لرستان. ۱۴(۲): ۸۰-۷۱.

۲. امیدبیگی ر (۱۳۸۴) رهیافت‌های تولید و فراوری گیاهان دارویی. چاپ دوم، انتشارات طراحان نشر. جلد اول، ۲۸۳ ص.

۳. جباری ف، احمدی ا، پوستینی ک. و علیزاده ه (۱۳۸۹) بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با پایداری غشای سلولی و کلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی. علوم کشاورزی ایران. ۳۷: ۳۱۶-۳۰۷.

۴. دولت‌آبادیان آ، مدرس ثانوی س ع م و اعتمادی ف (۱۳۸۷) اثر پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک بر جوانه‌زنی بذر گندم (*Triticun aestivum* L.) در شرایط شوری. زیست‌شناسی ایران. ۲۱(۴): ۷۰۲-۶۹۲.

۵. صالحیان خ (۱۳۷۴) اثر قدرت بذر بر سبز کردن، نمو و عملکرد دانهٔ گندم. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شیراز. ۱۱۶ ص.

۶. فرزانه ا، عبادی م ت، نعمتی س و آرویی ح (۱۳۹۰) بررسی ویژگی‌های جوانه‌زنی دو رقم اصلاح‌شدهٔ گیاه دارویی گل گندم (*Centaurea cyanus* L.) و تودهٔ 'بومی' ایران در شرایط تنش شوری. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۷(۱): ۱۷۲-۱۶۱.

۷. مهدوی ب، مدرس ثانوی س ع م، آقاعلیخانی م و شریفی م (۱۳۹۲) اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) در شرایط تنش کم‌آبی. پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران). ۲۶(۳): ۳۵۲-۳۶۵.

۸. ونایی س، سی‌وسه‌مرده ع و حیدری غ (۱۳۹۰) اثرات تنش سرما در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود (*Cicer arientinum* L.). پژوهش‌های زراعی ایران. ۹(۳): ۵۲۴-۵۱۴.

9. Akimoto C, Aoyagi H and Tanaka H (1999) Endogenous elicitor-like effects of alginate on physiological activities of plant cells. Applied Microbiology and Biotechnology. 52: 429- 436.

10. Albuquerque MC, DeF E and Carvalho NM (2003) Effects of the type of environmental stress on the emergence of sunflower (*Helianthus annus* L.), soybean (*Glycine max* L.) Merril and maize (*Zea mays* L.) seeds with different levels of vigor. Seed Science and Technology 31: 465-479.

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

12. Chandrkrachang S (2002) The application of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. In: Suchiva VK Chandrkrachang S, Methacanon P, Peter MG (eds.), Advances in Chitin Science, Bangkok. Pp. 458-462.

13. Cote F and Hahn MG (1994) Oligosaccharins: structures and signal transduction. Plant Molecular Biology. 26: 1379-1411.

14. Devlieghere F, Vermeulen A and Debevere J (2004) Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology. Pp. 703-714.

15. Ghoulam C and Fares K (2001) Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Seed Science and Technology. 29: 357-364.

16. Giannopolitis C and Ries S (1997) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plant. Plant Physiology. 59: 309-314.

17. Guan YJ, Hu J, Wang XJ and Shao CX (2009) Seed priming with Chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. Journal of Zhejiang University-Science B. 10: 427-433.

18. Kananot N, Pichyangkura R, Chanprame S, Chadchawan S and Limpanavech P (2010) Chitosan specificity for the *in vitro* seed germination of two *Dendrobium* orchids (Asparagales: orchidaceae). Scientia Horticulture. 124: 230-247.

19. Katchadat K (2005) Effects of Chitosan on Fusarium solani causative a soybean related. Sudden death syndrome pathogen (M.Sc. Thesis). Technology and Environmental Management, Faculty of Graduate Studies, Mahidol University.

20. Mahdavi B and Rahimi A (2013) Seed priming with chitosan improves the germination and growth performance of ajowan (*Carum copticum* L.) under salt stress. EurAsian Journal of Biosciences. 7: 69-76.

21. Mary E and Davis MJ (1998) Defense Response in slash pine: Chitosan treatment alters the abundance of specific mRNAs. Molecular Plant-Microbe Interactions. 10(1): 135-137.

22. No HK, Meyers SP and Lee KS (1989) Isolation and characterization of chitin from crawfish shell waste. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 37(3): 575-579.

23. Pandolfini T, Rotino GL, Camerini S, Defez R and Spena A (2002) Optimization of transgene action at the post-transcriptional level: High Quality Parthenocarpic Fruits in Industrial Tomatoes. BMC Biotechnology. 2: 1.

24. Park PJ, Je JY and Kim SK (2004) Free radical scavenging activities of differently deacetylated Chitosan using an ESR spectrometer. Carbohydrate Polymers. 55: 17-22.

25. Perry DA (1991) Methodology and application of vigor tests. International seed testing. Association, Zurich, Switzerland. 275 p.

26. Pospieszny H, Chirkov S and Atabekov J (1991) Induction of antiviral resistance in plants by Chitosan. Plant Science. 79: 63-68.

27. Rodriguez ABF, Costales D, Cabrera JC and Tellez MAM (2011) Chitosan physic-chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotianae.* Pesticide Biochemistry and Physiology. 100: 221-228.

28. Ruan SL and Xue QZ (2002) Effects of chitosan coating on seed germination and salt-tolerance

of seedlings in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). Acta Agronomica Sinica. 28(6): 803-808. (In Chinese).

29. Sui XY, Zhang WQ, Xia W and Wang Q (2002) Effect of chitosan as seed coating on seed germination and seedling growth and several physiological and biochemical indexes in rapeseed. Plant Physiology Communications. 38: 225-227.
30. Sukwattanasinitt M, Klaikherd A, Skulnee K and Aiba S (2001) Chitosan as a releasing device for 2,4-D herbicide, in: Uragami, T., Kurita, K., Fukamizo T. (Eds.), Chitin and Chitosan, Chitin and Chitosan in Life Science, Yamaguchi, pp. 142–143, ISBN 4-906464-43-0.
31. Tawaha ARM and Ghazawi AL (2013) Effect of chitosan on germination and salt tolerance of lentil (*Lens culinaris* L.), Research on Crops. 14: 489-491.
32. Uozumi N and Kobayashi T (1994) Application of hairy root and bioreactors. Pp. 307-338. In: D. D. Y. Ryu and S. Furusaki (eds.). Advances in Plant Biotechnology. Elsevier, NY, USA.
33. Venskutionis PR, Dapkevicius A and Baranuauskiene M (1995) Flavor composition of some lemon-like aroma herbs from Lithuania. Development in Food Science. 37: 833-847.
34. Walker Smmon M and Ryan CA (1984) Proteinase Inhibitor Synthesis in Tomato Leaves. Plant Physiology. 76: 787-790.
35. Zeng D and Luo X (2012) Physiological Effects of Chitosan Coating on Wheat Growth and Activities of Protective Enzyme with Drought Tolerance. Soil Science. 2: 282-288.
36. Zeng D, Luo X and Tu R (2012) Application of bioactive coatings based on chitosan for soybean seed protection.