

تأثیر سطوح مختلف کیتوسان بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک دو پایه مرکبات تحت تنش شوری

بهرام عابدی^{۱*}، بهنام اسفندیاری^۲، سعیدرضا وصال^۳ و غلامحسین داوری‌نژاد^۴

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۹)

چکیده

با توجه به روند افزایشی توسعه اراضی شور و کمبود اراضی مطلوب برای کشاورزی در طی یک دهه اخیر، شناسایی پایه‌های مقاوم به شوری جهت بهبود عملکرد از اهمیت زیادی برخوردار است. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی بر روی دو پایه سیترنج و نارنج با ۵ سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) به همراه تیمار صفر (شاهد) و دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان (به صورت مصرف خاکی و محلول‌پاشی) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. نتایج نشان داد که اثر متقابل شوری × کیتوسان × پایه مرکبات برای تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. با افزایش غلظت نمک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، میزان پرولین و غلظت کربوهیدرات‌های محلول بطور معنی‌داری افزایش یافتند. همچنین، برخی صفات نظیر رطوبت نسبی، کلروفیل a، b و پروتئین کل با افزایش غلظت شوری کاهش معنی‌داری را نشان دادند. بطور کلی غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام و محلول‌پاشی کیتوسان بیشترین تأثیر را بر روند بهبود و تحمل شوری در هر دو پایه سیترنج و نارنج به همراه داشت. از نظر مقاومت به شوری پایه نارنج در مقایسه با سیترنج تحت تأثیر سطوح بالاتر شوری مقاومت بیشتری را نشان داد. با توجه به نتایج، می‌توان اظهار داشت که پایه نارنج متحمل‌تر به شوری می‌باشد و کیتوسان می‌تواند باعث بهبود شرایط رشد مرکبات تحت تأثیر تنش شوری شود.

کلمات کلیدی: کلرید سدیم، کیتوسان، نارنج

۱- دانشجوی دکتری گروه باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
 ۲- استادیار گروه باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
 ۳- استادیار گروه پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
 ۴- استاد گروه باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

* پست الکترونیک: abedy@um.ac.ir

مقدمه

شوری خاک توسط نمک کلرید سدیم از جمله مهمترین عوامل در کاهش عملکرد و راندمان محصولات کشاورزی می باشد (گوپتا^۱ و همکاران، ۲۰۲۱). مناطق وسیعی در بخش مرکزی و جنوبی کشور (استان‌های فارس و کرمان)، که از جمله مناطق کشت مرکبات بشمار می‌روند، نیز با مشکل شوری مواجه هستند (گلغین و همکاران، ۱۳۹۲). تحمل به شوری در بین گونه‌های مختلف مرکبات متفاوت و بستگی زیادی به نوع پایه آن‌ها دارد (سیمپسون^۲ و همکاران، ۲۰۱۴).

تنش شوری باعث نقصان رشد و میوه‌دهی در مرکبات می‌شود. پاسخ مرکبات به تنش از طریق کاهش پتانسیل اسمزی در محیط ریشه می‌باشد که جذب آب و روابط آبی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (مانس و تستر^۳، ۲۰۰۸) بنابراین، کاهش رشد و عملکرد محصول به اثرات سمی تجمع یون‌های نمک یا استرس اسمزی ایجاد شده توسط آن‌ها مرتبط می‌باشد (ملگار^۴ و همکاران، ۲۰۰۸). غلظت بالای یون سدیم باعث بر هم خوردن تعادل اسمزی، ممانعت از تقسیم سلولی و در نهایت کاهش رشد می‌شود (روسی^۵ و همکاران، ۲۰۱۷). در مرکبات کلر به نسبت به سدیم یون سمی‌تری محسوب می‌شود. متفاوت بودن واکنش‌های گونه‌های مرکبات به تحمل در برابر تنش شوری را عمدتاً به توانایی آنان در مانع شدن از جذب یون کلر نسبت می‌دهند (لوپز-کلیمنت^۶ و همکاران، ۲۰۰۸). تأثیر ثانویه تنش شوری به‌عنوان یک تنش اکسیداتیو، ایجاد مولکول‌های اکسیژن فعال^۷ (مانند پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های پراکسید) می‌باشد. تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن با مشارکت سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی سلول همراه است (گیل و توتجا^۸، ۲۰۱۰). در مرکبات یکی از دلایل تحمل به شوری به افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و اسکوربیک پراکسیداز نسبت داده می‌شود (سدای^۹ و همکاران، ۲۰۱۴).

با توجه به حساسیت مرکبات به شوری، می‌توان با استفاده از تیمارهای مناسب، مقاومت به شوری را در مرکبات ایجاد کرد. امروزه با پیشرفت‌های کشاورزی پایدار، استفاده از ترکیبات ارگانیک رو به افزایش می‌باشد (انجوم^{۱۰}، ۲۰۱۱) کیتوسان از جمله ترکیبات ارگانیک می‌باشد که از بقایای پوسته سخت پوستان، میگو و دیواره قارچ گرفته می‌شود (کتی‌یار^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۴). کیتوسان با فرمول شیمیایی $(C_6H_{11}O_4N)_n$ ترکیبی غیرسمی، تجزیه‌پذیر و دوست‌دار محیط زیست به حساب می‌آید. بعلاوه دارا بودن خصوصیات بیولوژیکی متعدد (ضدقارچی، تحریک رشد گیاهی، تحریک جوانه‌زنی، فعال‌سازی ژن‌های دفاعی گیاه و ...) امروزه بطور گسترده در برخی مناطق جهان مانند تایلند، هند و چین استفاده می‌شود (لیمپاناوچ^{۱۲} و همکاران، ۲۰۰۸). گزارشات زیادی درباره اثرات مثبت کیتوسان بر روی گیاهان زراعی و سایر محصولات بیان شده است. یوی^{۱۳} و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که محلول‌پاشی کیتوسان، اثرات مثبتی بر میزان هورمون‌های درونی، فعالیت آنزیم الفامیلز، میزان کلروفیل برگ و سرعت فتوسنتزی گیاه ذرت داشته است (خان^{۱۴} و همکاران، ۲۰۰۳). در نهال‌های قهوه، محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف کیتوسان در شرایط مزرعه و گلخانه باعث افزایش میزان کلروفیل، کارتنوئید، ارتفاع گیاه و جذب مواد معدنی تحت شرایط خشکی شد (دزانگ^{۱۵} و همکاران، ۲۰۱۱). پیش‌تیمار بذر شنبلیله بمدت ۶ ساعت در محلول کیتوسان منجر به کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری شد (یحیی‌آبادی^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۶). مشخص شده است که انواع متفاوت کیتوسان از لحاظ وزن مولکولی باعث کاهش اثرات نامطلوب شوری در گیاه اطلسی در محیط درون شیشه‌ای شد (کروپاماکیویز و فورنال^{۱۷}، ۲۰۱۸).

مطالعات زیادی در زمینه استفاده از ترکیبات مختلف در جهت کاهش اثرات مخرب شوری در گیاهان، انجام شده است، اما این پژوهش‌ها اکثراً در گیاهان زراعی صورت

10. Anjum
11. Katiyar
12. Limpanavech
13. Yue
14. Khan
15. Dzung
16. Yahya abadi
17. Krupa-Mańkiewicz and Fornal

1. Gupta
2. Simpson
3. Munns and Tester
4. Melgar
5. Rossi
6. Lopez-Climent
7. Reactive oxygen species (ROS)
8. Gill and Tuteja
9. Seday

استاندارد) تعیین شد. سنجش پروتئین به روش ویلسون و والکر^۶ (۲۰۰۰) انجام شد. از سدیم کربنات ۰.۲٪ به همراه محلول سولفات مس به عنوان معرف استفاده و نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل ۱۶۰۱ شرکت شیمادزو، ژاپن) مورد سنجش قرار گرفتند.

جهت سنجش کربوهیدرات کل از روش آنترونا^۷ و پروتکل مک‌کریدی^۸ و همکاران (۱۹۵۰) استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش بور^۹ و همکاران (۲۰۰۳) در شرایط pH=۷/۵ استفاده شد. سنجش فعالیت این آنزیم با استفاده از سنجش مهار احیاء نوری^{۱۰} نیتروبلوتترازولیوم^{۱۱} در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش بور و همکاران (۲۰۰۳)، اندازه‌گیری شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۳-۴ دقیقه بررسی گردید. این پژوهش بصورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اعمال شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل پنج سطح شوری (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار محلول کلرید سدیم)، دو پایه مرکبات شامل (سیترنج و نارنج) و دو غلظت کیتوسان (۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام) به دو صورت محلول‌پاشی و همراه محلول نمک (خاکی) مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

رطوبت نسبی

بر اساس نتایج پژوهش، سطوح مختلف کیتوسان اثرات معنی‌داری در سطوح مختلف شوری در هر دو پایه سیترنج و نارنج بر روی صفات اندازه‌گیری شده نشان دادند. افزایش در غلظت شوری بطور معنی‌داری رطوبت نسبی را کاهش داد. برای تمامی غلظت‌های شوری و کیتوسان در هر دو پایه نارنج و سیترنج بترتیب، بیشترین و کمترین

گرفته و گزارشات اندکی در زمینه کاربرد خارجی ترکیبات زیستی نوین در درختان میوه و بخصوص مرکبات گزارش شده است. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف کیتوسان بر خصوصیات فیزیولوژیک در دو پایه مهم مرکبات تحت تنش شوری در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه تحقیقاتی گروه باغبانی و فضای سبز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. ابتدا نهال‌های دو پایه مرکبات (سیترنج و نارنج) را از مرکز تحقیقات مرکبات کشور واقع در شهرستان رامسر تهیه و به گلدان‌های پلاستیکی با حجم ۱۰ لیتر حاوی مخلوطی از ماسه، خاکبرگ و خاک باغچه به نسبت مساوی منتقل شدند. آنالیز عناصر غذایی و هدایت الکترولیتی خاک باغچه قبل از کاشت مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استقرار نهال‌ها (پس از ۲ ماه) تیمارهای شوری اعمال شد. جهت اجتناب از ایجاد شوک ناشی از شوری، مقادیر نمک در هر یک از تیمارها تدریجاً به آب آبیاری اضافه شد. آبیاری نهال‌های تیمار شاهد با آب مقطر انجام گرفت. الیگومر کیتوسان از شرکت کیتولایف^۱ کره جنوبی تهیه شد. برداشت داده‌ها، ۶۰ روز بعد از اعمال تیمارها و در مرحله رشد رویشی نهال‌ها صورت گرفت.

مقدار نسبی آب برگ^۲ در برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته پس از توزین اولیه و ۲ تا ۳ ساعت قرارگیری در آب مقطر و سپس خشک کردن آن‌ها در دمای ۷۰°C به مدت ۲۴ ساعت در آون (مدل BF120E ساخت ایران)، از طریق رابطه ریچی^۳ و همکاران (۱۹۹۰) برآورد شد:

$$RWC = \frac{100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس})}{\text{وزن خشک}} \quad (\text{تر})$$

میزان کلروفیل a و b بر اساس روش تورس^۴ و همکاران (۲۰۱۴) اندازه‌گیری شد.

میزان پرولین در بافت برگ بر اساس روش باتس^۵ و همکاران (۱۹۷۳) که مبتنی است بر کاربرد اسید سولفوسالیسیلیک و معرف ناین‌هیدرین و سپس قرائت جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر (و استفاده از منحنی

6. Wilson and Walker

7. Antrona

8. Mc Cready

9. Bor

10. Photoreduction

11. Nitroblue tetrazolium chloride- Monohyd rate (NBT)

1. Kittolife

2. Relative Water Content (RWC)

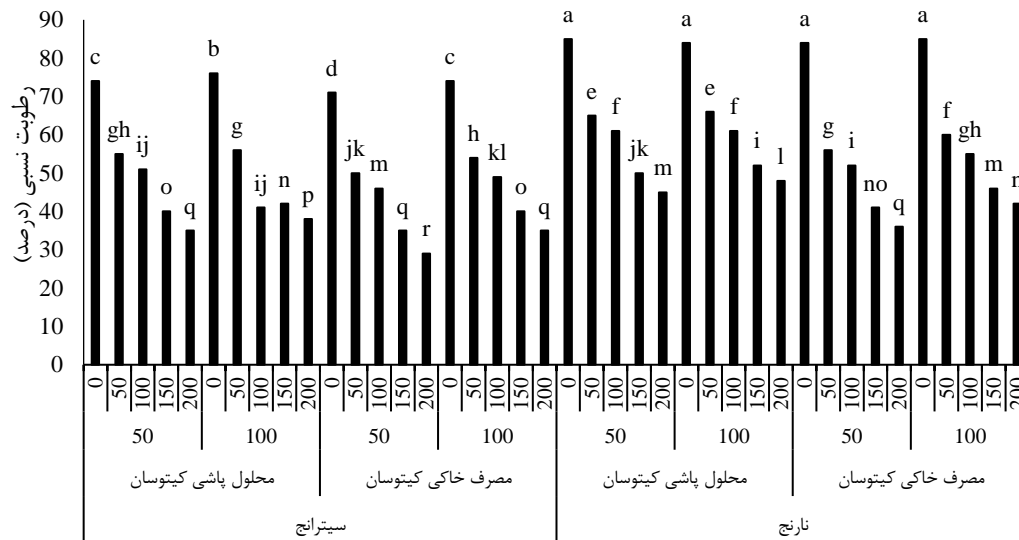
3. Ritchi

4. Torres

5. Bates

کاهش فتوسنتز و با افزایش شوری منجر به توقف انتقال الکترون و ممانعت نوری در چرخه فتوسنتزی می‌شود (انجوم، ۲۰۱۱).

رطوبت نسبی مربوط به غلظت صفر (شاهد) و ۲۰۰ میلی مولار شوری بود (شکل ۱). محتوای رطوبت نسبی برگ همبستگی بالایی با پتانسیل آب برگ دارد. کاهش محتوی رطوبت نسبی برگ در ابتدا منجر به بسته شدن روزنه‌ها و



شکل ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان رطوبت نسبی. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.

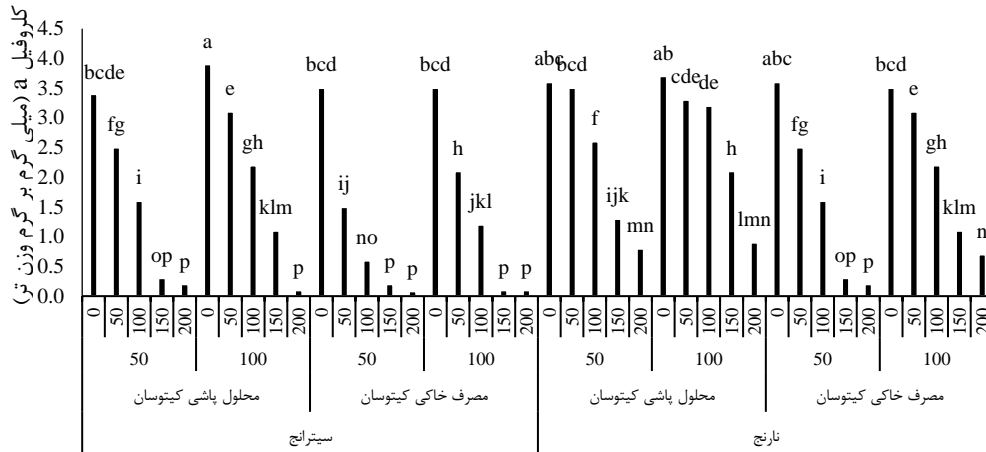
تحریک فعالیت این آنزیم می‌شوند و در شرایط تنش غلظت آن افزایش می‌یابد (ملگار و همکاران، ۲۰۰۸). کیتوسان با افزایش رنگی‌هایی نظیر کاروتنوئید و مولکول‌های آبدوست و به کمک آنزیم‌های سرکوب‌کننده رادیکال‌های آزاد مانع از خسارت به ساختار کلروفیل‌ها می‌شود و به این صورت صدمات ناشی از تنش را کاهش می‌دهد.

پروتئین کل

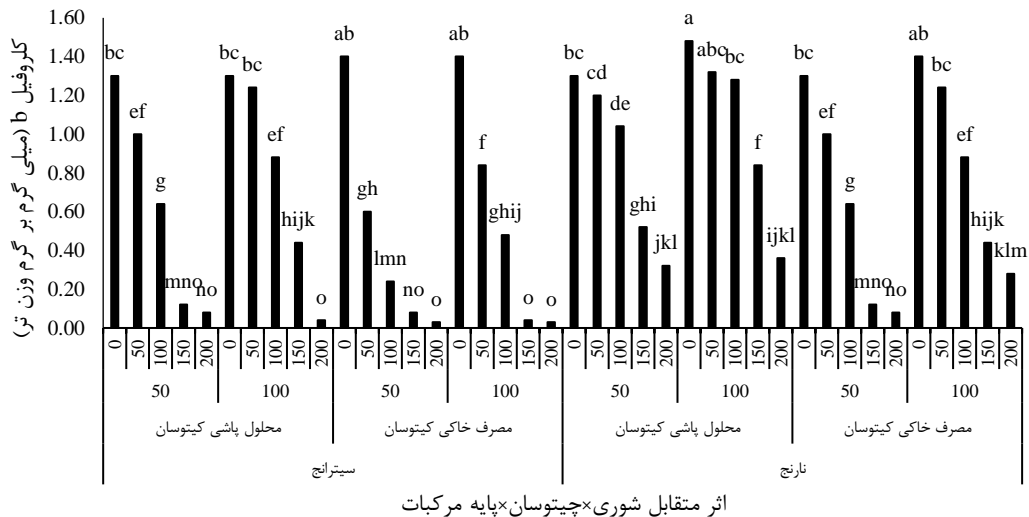
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴) نشان داد که برای هر دو پایه سیترانج و نارنج تحت تأثیر محلول‌پاشی و مصرف خاکی ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان با افزایش غلظت شوری پروتئین کل بطور معنی‌داری کاهش نشان داد (شکل ۴). علت کاهش میزان پروتئین می‌تواند ناشی از اثر شوری (اثر ویژه یون‌ها و یا تنش اکسیداتیو) بر ساختار پروتئین‌ها و تخریب آن‌ها و یا در اثر صدمه به مسیرهای سنتز و کاهش تولید پروتئین باشد. تأثیر اکسیژن‌های فعال بر DNA و RNA می‌تواند از دلایل کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط تنش باشد (گیل و توتجا، ۲۰۱۰).

کلروفیل

با افزایش غلظت شوری کلروفیل a و b به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. طوری که تحت تأثیر مصرف خاکی و محلول‌پاشی کیتوسان در هر دو پایه غلظت ۲۰۰ میلی مولار شوری دارای کمترین مقدار کلروفیل a و b بود (شکل ۲ و ۳). بیشترین مقدار کلروفیل a و b در غلظت صفر (شاهد)، تحت تأثیر محلول‌پاشی ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان، بترتیب در پایه‌های سیترانج و نارنج بدست آمد. نتایج نشان داد که کاهش کلروفیل a و b تحت تأثیر غلظت‌های مختلف شوری و کیتوسان برای پایه نارنج در مقایسه با پایه سیترانج کمتر بود. همچنین، کاهش کلروفیل a و b تحت تأثیر محلول‌پاشی کیتوسان در مقایسه با مصرف خاکی آن در هر دو پایه کمتر بود. مقدار کلروفیل در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان در مقایسه با ۵۰ پی‌پی‌ام تحت تأثیر غلظت‌های مختلف شوری در هر دو پایه کمتر کاهش نشان داد. کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش شوری به دلیل فعالیت بیشتر آنزیم کلروفیل‌از و تجمع کلر گزارش شده است. همچنین بعضی از مواد تنظیم‌کننده رشد نظیر آبسزیک اسید و اتیلن موجب

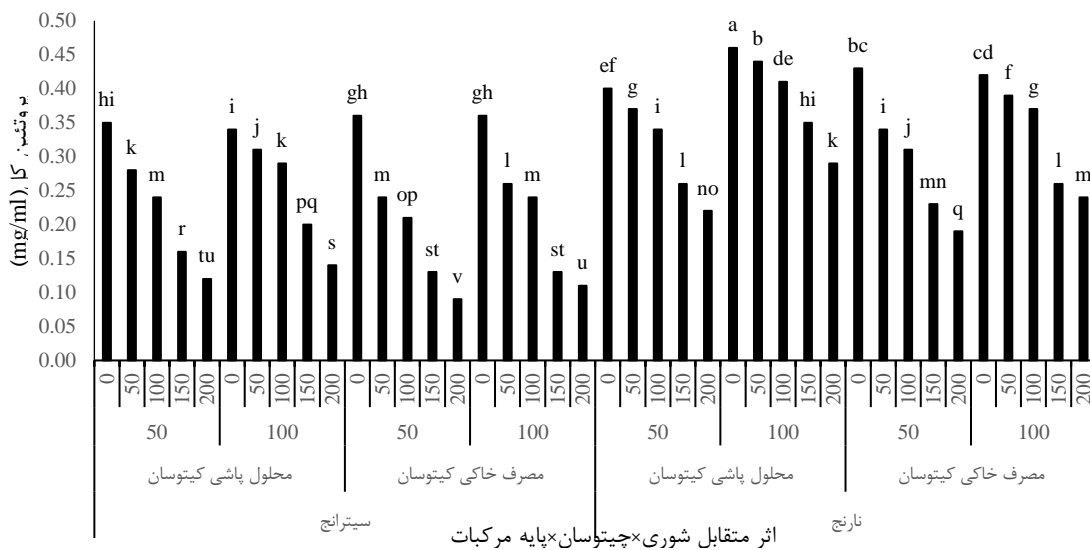


شکل ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان کلروفیل a. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.



اثر متقابل شوری «چیتوسان» پایه مرکبات

شکل ۳- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان کلروفیل b. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.



شکل ۴- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر پروتئین. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.

افزایش غلظت شوری باعث افزایش فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز شد. بطوری که برای تمامی غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان که بصورت محلول‌پاشی و مصرف خاکی بر روی دو پایه سیترنج و نارنج استفاده شده بود، در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری هر دو آنزیم دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند (شکل ۷ و ۸). افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر تنش شوری در گیاهان مختلف مشاهده شده است و طبق نتایج تعدادی از این پژوهش‌ها، در رقم‌های متحمل‌تر و در سطوح بالای شوری، فعالیت آنزیم مذکور بیشتر بود (سدا و همکاران، ۲۰۱۴).

در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ایزوآنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز به دلیل خنثی‌سازی رادیکال سوپراکسید از جمله مهم‌ترین سیستم دفاعی آنزیمی محسوب می‌شود. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز زمانی که غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان بصورت محلول‌پاشی استفاده شده بودند، بیشتر از مصرف خاکی آن برای هر دو پایه سیترنج و نارنج بود. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو آنزیم فوق برای پایه نارنج بدست آمد (شکل ۷ و ۸). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت تنش شوری در گیاهان افزایش پیدا می‌کنند و ارتباطی بین میزان آنزیم‌ها و مقاومت به شوری وجود دارد. کیتوسان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود (دزبانگ و همکاران، ۲۰۱۱). گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم کاتالاز در برگ گیاه بامیه تحت تأثیر استفاده از کیتوسان افزایش یافته است (ماندل^۳ و همکاران، ۲۰۱۲). مهدوی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیداز تحت تأثیر کیتوسان افزایش یافت.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل شوری×کیتوسان×پایه مرکبات برای تمامی صفات مورد بررسی در این آزمایش معنی‌دار بود. برای صفات رطوبت نسبی، کلروفیل a و b، پروتئین کل با افزایش غلظت شوری روند کاهشی مشاهده شد. اما فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز، میزان پروتئین، غلظت کربوهیدرات‌های محلول و درصد نشت الکترولیتی با افزایش غلظت شوری بطور معنی‌داری افزایش نشان دادند.

از فرآیندهای مهم درون سلولی، سنتز پروتئین است که متأثر از تنش شوری هیدرولیز آنها با شدت بیشتری انجام می‌شود (مهدوی^۱ و همکاران، ۲۰۱۱). از طرفی کیتوسان با داشتن ترکیبات آمینو و ازت‌دار در ساختار خود، منجر به افزایش میزان پروتئین کل در گیاهان می‌شود (زنگ و لو^۲، ۲۰۱۲).

کربوهیدرات محلول

برای هر دو پایه نارنج و سیترنج تحت تأثیر غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان با افزایش غلظت شوری تا ۱۵۰ میلی‌مولار غلظت کربوهیدرات‌های محلول بطور معنی‌داری افزایش یافت. اما با افزایش غلظت شوری از ۱۵۰ به ۲۰۰ میلی‌مولار، غلظت کربوهیدرات‌های محلول بطور معنی‌داری کاهش نشان داد (شکل ۵).

افزایش غلظت کربوهیدرات محلول، تحت تأثیر محلول‌پاشی کیتوسان بیشتر از مصرف خاکی آن بود. همچنین، این افزایش در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان بیشتر از ۵۰ پی‌پی‌ام بود (شکل ۵). شوری بر متابولیسم قندهای محلول اثر گذاشت و مقدار آن را افزایش می‌دهد. در پاسخ‌های اسمزی گیاهان، تجمع کربوهیدرات از عواملی است که قادر است از اختلالات درغشای سلولی جلوگیری نماید (مانس و تستر، ۲۰۰۸).

پرولین

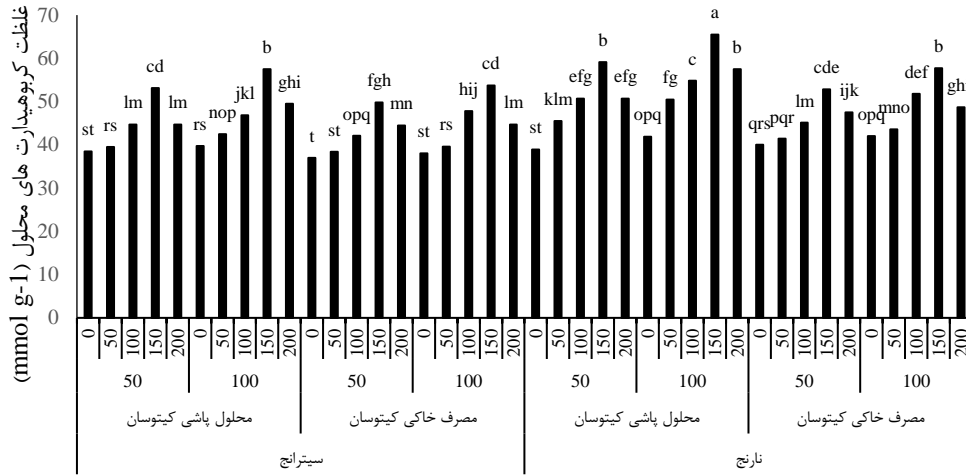
با افزایش غلظت شوری تحت تأثیر محلول‌پاشی و مصرف خاکی کیتوسان برای هر دو پایه نارنج و مرکبات میزان پرولین در مقایسه با شاهد بطور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان پرولین بدست آمده مربوط به غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری و محلول‌پاشی ۵۰ پی‌پی‌ام کیتوسان برای پایه نارنج بود (شکل ۶).

افزایش پرولین در شرایط تنش، می‌تواند ناشی از سنتز پرولین، کاهش اکسید شدن پرولین به گلوتامات و یا کاهش مصرف آن در سنتز پروتئین و یا افزایش تجزیه پروتئین‌ها باشد (گیل و توتجا، ۲۰۱۰). بطور کلی میزان پرولین بدست آمده از غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان در هر دو شکل محلول‌پاشی و مصرف خاکی بیشتر از غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام کیتوسان بود. همچنین میزان پرولین بیشتری در پایه نارنج نسبت به پایه سیترنج بدست آمد (شکل ۶).

آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز

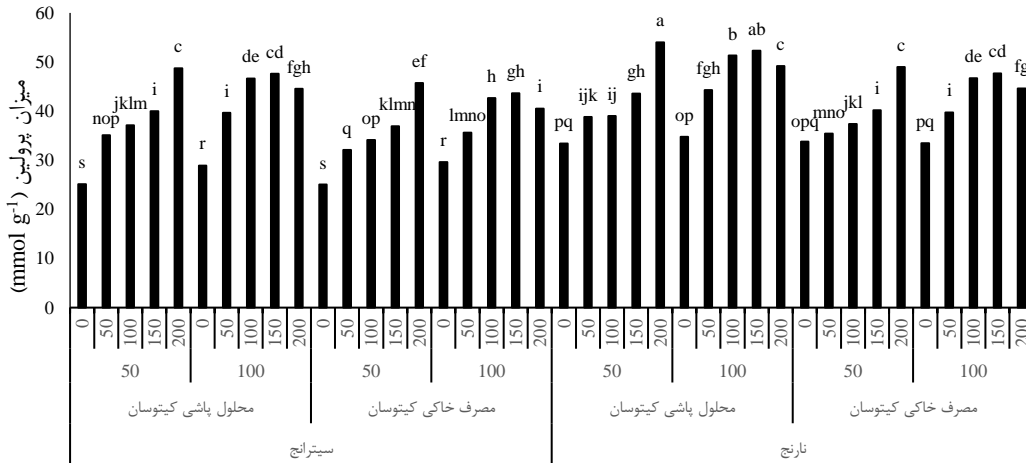
1. Mahdavi
2. Zeng and Lu

3. Mondal

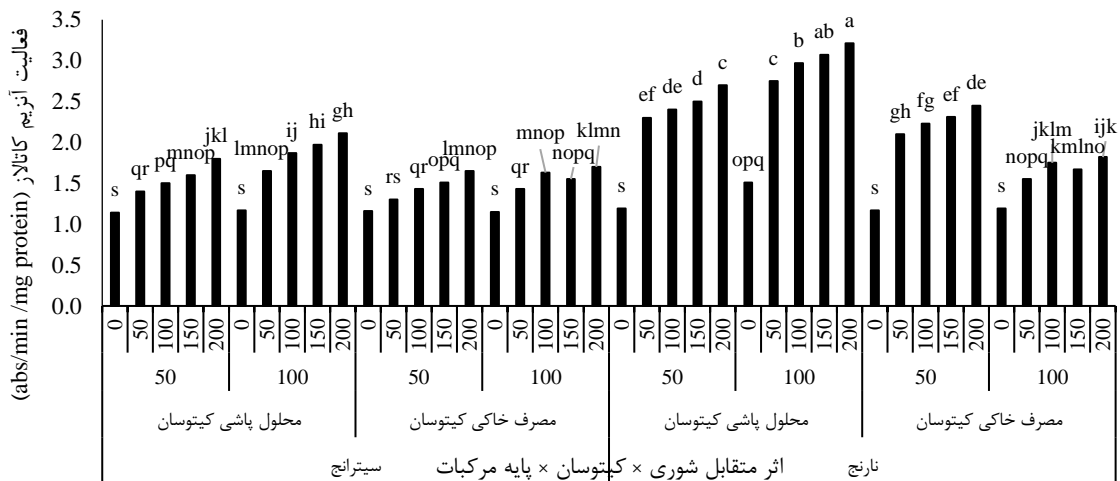


اثر متقابل شوری × چیتوسان × پایه مرکبات

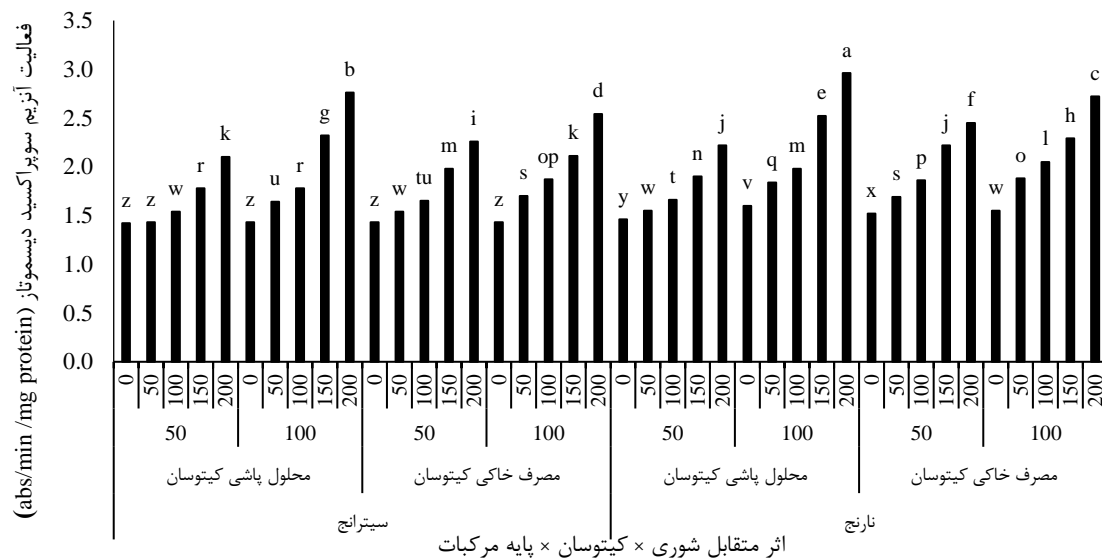
شکل ۵- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان کربوهیدرات محلول. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.



شکل ۶- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان پروتئین برگ. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.



شکل ۷- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.



شکل ۸- اثر متقابل غلظت‌های مختلف کیتوسان در دو پایه مرکبات بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. حروف مشترک نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد در آزمون LSD می‌باشند.

که باعث بهبود کارایی مصرف آب، افزایش مقاومت برگ در برابر تعرق و در نهایت مقاومت به تنش شوری می‌شود (زنگ و لو، ۲۰۱۲). به نظر می‌رسد انجام داده‌های بیشتر در گیاهان متعدد و سنجش صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی بیشتر بتواند ما را در درک بهتر سازوکار عمل کیتوسان در تنش شوری یاری کند.

نتیجه‌گیری کلی

شوری موجب القای تنش اکسیداتیو ثانویه شده و با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب تخریب غشاء و افزایش نشت الکترولیتی می‌گردد. تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با سایر سطوح شوری باعث کاهش بیشتر کلروفیل، پرولین، رطوبت نسبی و پروتئین کل شد. از نظر مقاومت و تحمل شرایط تنش شوری پایه نارنج تحمل بیشتری نسبت به پایه سیترنج داشت. همچنین غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام کیتوسان به روش محلول پاشی نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بیشترین تأثیر در کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری در بین دو پایه سیترنج و نارنج داشت. بطور کلی می‌توان بیان کرد که کیتوسان استفاده شده در این آزمایش از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کمک تعدیل تنش اکسیداتیو در جهت افزایش غلظت ترکیبات اسمولیتی باعث بهبود شرایط در اثر تنش شوری شده و تحمل پایه‌های سیترنج و نارنج را افزایش داده است.

بین غلظت‌های مختلف شوری، غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین اثر کاهش بر روی صفات مورد بررسی داشت. برای اکثر صفات کاربرد کیتوسان به صورت محلول پاشی بهتر از مصرف خاکی آن بود. علت کاربرد بهتر کیتوسان به صورت محلول پاشی را شاید به دلیل جذب و تأثیر سریع‌تر آن توسط پایه‌های مورد آزمایش عنوان کرد. بین غلظت‌های کیتوسان، غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در مقایسه با ۵۰ پی‌پی‌ام اثر مثبت‌تری را بر روی بهبود فعالیت‌های آنزیمی و سایر صفات مورد بررسی داشت. کیتوسان می‌تواند با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز، باعث توانمندسازی بیشتر سلول در خنثی سازی رادیکال‌های فعال اکسیژن شده و اثرات تخریب غشای پلاسمایی را کاهش می‌دهد (زاید^۱ و همکاران، ۲۰۱۷). با توجه به پژوهش‌های پیشین و نتایج حاضر، کیتوسان می‌تواند بعنوان یک سیستم حفاظتی غشایی در جهت کاهش اثرات تنش در نظر گرفته شود. اما همچنان مکانیزم عمل کیتوسان در تعدیل تنش بخوبی روشن نیست. برخی مطالعات نشان داده که کیتوسان با تحریک سلول‌های اپیدرمی تنباکو به تولید آب اکسیژنه و اکسید نیتریک که باعث تحریک بسته شدن روزنه‌ها می‌شود، مقاومت در برابر تنش را القا می‌کند (جی^۲ و همکاران، ۲۰۰۶). بسته شدن روزنه‌ها از جمله مزایای کیتوسان بوده

1. Zayed
2. Ge

منابع

- گل‌عین، ب.، میرعباسی، ف.، ربیعی، و. و فیفایی، ر. ۱۳۹۲. اثر تنش شوری بر میزان کلر، سدیم، پتاسیم، کلروفیل و قندهای محلول در نژادگان‌های مرکبات. مجله تولید و فرآوری محصولات زراعی و باغی، ۷(۳): ۱۷۳ تا ۱۸۲.
- Anjum, M.A. 2011. Effect of exogenously applied spermidine on growth and physiology of citrus rootstock Troyer citrange under saline conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35: 43-53.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline in eater stress studies. Plant Soil, 39: 205-208.
- Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet (*Beta vulgaris*) and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science, 164: 77-84.
- Dzung, N.A., Khanh, V.T.P. and Dzung, T.T. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. Carbohydrate Polymers, 84: 751-755.
- Ge, T.D., Sui, F.G. and Bai, L.P. 2006. Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize, Agricultural Sciences in China, 5(4): 291-298.
- Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerant in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
- Gupta, S., Schillaci, M., Walker, R., Smith, P.M.C., Watt, M. and Roessner, U. 2021. Alleviation of salinity stress in plants by endophytic plant fungal symbiosis: Current knowledge perspectives and future directions. Plant and Soil, 461(1): 219-244.
- Katiyar, D.A., Singh, H.B. and Bhanu, N. 2014. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. Advances in Plants and Agriculture Research, 1: 1-8.
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D.L. 2003. Chitosan and chitin oligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine. Journal of Plant Physiology, 160(8): 859-863.
- 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(1): 143-149.
- Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C. and Chadchanwan, S. 2008. Effect of chitosan on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturæ, 116: 65-72.
- Lopez-Climent, M.F., Arbona, V., Perez-Clemente R.M. and Gomez-Cadenas, A. 2008. Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery performance in citrus. Environmental and Experimental Botany, 62: 176-184.
- Mahdavi, B. Modarres Sanavy, S.A.M. Aghaali khani, M. and Sharifi, M. 2011. Effect of water stress and chitosan on germination and proline of seedling in sunflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Crop Improvement 25: 728-741.
- Mc Cready, R.M. Fray, V.A. Dalins, S. 1950. Determination of Starch and Amylose in Vegetables. Analytical Chemistry, 229: 1156-1158.
- Melgar, J.C., Syvertsen, J.P., Martinez, V. and Garcia-Sanchez, F. 2008. Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. Biologia Plantarum, 52(2): 385-390.
- Mondal, M.M.A., Malek, M.A., Puteh, A.B., Ismail, M.R., Ashrafuzzaman, M. and Naher, L. 2012. Effect of foliar application of chitosan on growth and yield in okra. Australian journal of crop science, 6(5): 918-921.
- Munns, R. and Tester, R. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Physiology, 59: 651-681.
- Ritchi, S.W., Nguyen, H.T. and Holiday A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30(1): 105-111.
- Rossi, L., Zhang, W. and Ma, X. 2017. Cerium oxide and chitosan nanoparticles alter the salt stress tolerance of *Brassica napus* L. by modifying the formation of root apoplastic barriers. Environmental Pollution, 229: 132-138.

- Seday, U., Gulsen, O. and Toprak, G. 2014. Response of citrus rootstocks to different salinity levels for morphological and antioxidative enzyme activities. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 24(2): 512-520.
- Simpson, C.R., Nelson, S.D., Melgar, J.C., Jifon, J. and Volder, A. 2014. Growth response of grafted and ungrafted citrus trees to saline irrigation. *Scientia Horticulturae*, 169: 199-205.
- Torres, G.T., Chow, F., Furlan, C.M. and Mandelli, F. 2014. Standardization of a protocol to extract and analyze chlorophyll a and carotenoids in *Gracilariat enuistipitata* var zhang (*Rhodophyta*). *Brazilian journal of oceanography*, 62(1): 57-63.
- Wilson, K. and Walker, J. 2000. *Practical Biochemistry: Principles and Techniques*. Cambridge University Press.
- Yahya abadi, H.S., Asgharipour, M.R. and Basiri, M. 2016. Role of chitosan in improving salinity resistance through some morphological and physiological characteristics in fenugreek (*Trigonella foenum* L). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 7(25): 175-181.
- Yue, D.Y.Z., Zhi, M.Z., Yong, G.Q., Yin, G.W. and Xiu, J. 2001. Effect of chitosan on physiological activities in germinating seed and seedling leaves of maize. *Journal of Habei vocational technical Teachers College*, 15(4): 9-12.
- Zayed, M.M., Elkafafi, S.H., Zedan, A.M. and Dawoud, S.F. 2017. Effect of Nano Chitosan on Growth, Physiological and Biochemical Parameters of *Phaseolus Vulgaris* under Salt Stress. *Journal of Plant Production*, 8(5): 577-585.
- Zeng, D. and Luo, X. 2012. Physiological effects of chitosan coating on wheat growth and activities of protective enzyme with drought tolerance. *Journal of Soil Science*, 2(03): 282 p.