

اثرگذاری کیتوزان بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زنیان (*Carum copticum* L.)

صالحه نادری^{۱*}، براتعلی فاخری^۲، مجتبی سراجی^۳

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی و پژوهشکده زیست‌فناوری، دانشگاه زابل

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی و پژوهشکده زیست‌فناوری، دانشگاه زابل

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۷/۱۵

چکیده

کیتوزان یک پلی ساکارید گلوزامین مشتق شده از کیتین است که به عنوان الیسیستور زیستی برای بهبود بخشیدن بیوسنتز متابولیست‌های ثانویه استفاده می‌شود. بنابراین به منظور بررسی اثر کیتوزان بر میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (CAT) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، ترکیبات فنلی، کلروفیل a، b، کربوهیدرات و پرولین گیاه زنیان، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه زابل انجام شد. تیمار کیتوزان شامل چهار سطح، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm بود. نتایج نشان داد با افزایش میزان کیتوزان تا ۲۰۰ ppm میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (CAT)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، ترکیبات فنلی، کلروفیل a، b، کربوهیدرات محلول و پرولین نسبت به شاهد به ترتیب ۷۲/۹۶، ۹۲/۲۲، ۹۱/۷۴، ۹۲/۶۱، ۸۶/۳۵، ۷۳/۵۲، ۸۱/۱۶، ۹۴/۶ و ۹۱/۴ درصد افزایش معنی‌داری یافت. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد کیتوزان به عنوان الیسیستور زیستی در غلظت‌های بالاتر از ۱۰۰ ppm در مرحله ۴ برگی گیاه زنیان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، ترکیبات فنلی، زنیان، کیتوزان، مالون دی‌آلدئید.

مقدمه

(Vranova and Breusegem, 2002). کنترل سطح آنتی‌اکسیدان‌ها توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌شود که شامل متابولیت‌هایی چون گلوکاتینون، آسکوربات، آلفانوکوفرول، هیدروکوئینون‌ها، بتا کاروتن، فلاونوئیدها و آنزیم‌های روبندگی اکسیژن واکشنگر (ROS) مانند پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز می‌باشد (Vangronsveld and Clijsters, 1994). این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند، بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آنها در گیاهان تغییر می‌کند (Alscher et al., 2002). در صورتیکه سمیت‌زدایی از اکسیژن-های واکشنگر (ROS) صورت نپذیرد آسیب جدی به کلروفیل‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدهای غشایی و اسیدهای هسته‌ای وارد می‌شود (Alscher et al., 2002). کیتوزان اخیراً بدلیل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌است (Guo et al., 2005). گیاهان در مقابله با تنش مکانیسم‌های حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین (Delauney and Verma, 1993; Nayyar, 2003) و قندهای محلول (Morgan, 1992; Hanson and Jones and Turner, 1980) اشاره کرد. کربوهیدرات‌ها ترکیباتی هستند که با فتوسنتز مرتبط بوده و در تنظیم اسمزی سلول، نقش مهمی ایفاء می‌کنند. برخی از گزارشات حاکی از تجزیه کربوهیدرات‌های مرکب به کربوهیدرات‌های ساده در طی بروز تنش در اکثر گیاهان زراعی است (Sanchez et al., 1998). با توجه به به اهمیت کربوهیدرات‌های محلول در فرآیند تنظیم اسمزی، افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ ممکن است به دلیل

گیاه دارویی زنیان با نام علمی *Carum copticum* L. متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) و دارای اسانس روغنی است که حاوی تیمول، پارا-اسیمن، آلفا-پینن و کارواکرول است (Davazdah Imami and Majnoun Hosseini, 2008) که برای آنها مصارف دارویی، بهداشتی و صنعتی ذکر شده‌است (Chevaller, 1997). از اسانس زنیان در دفع برخی آفات هم استفاده می‌شود (Sahaf et al., 2004). در طب مدرن به عنوان ضدعفونی کننده قوی، تقویت جهاز هاضمه و در مصرف خارجی به منظور درمان رماتیسم به کار می‌رود (Momeni and Shahrokhi, 1991; Mirzavand Boroujeni, 1992). روش‌های متعددی برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه وجود دارد. الیسیتورها ترکیباتی با منشأ زیستی یا غیر زیستی هستند که از طریق القای سیستم دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند (Zhao et al., 2005). کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی است. کیتوزان یک پلی ساکارید پلی کاتیونی، به عنوان الیسیتور زیستی کارآمد برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی زیادی تأیید شده‌است (Cheng et al., 2006). یک پاسخ مهم در برابر الیسیتورهای زیستی توسط سلول‌های گیاهی، تولید گونه‌های اکسیژن واکشنگر (ROS) مانند رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل ($OH\cdot$) و اکسیژن یکتایی ($1O_2$) می‌باشد که سمی هستند (Breusegem et al., 2001). ROS‌های تولید شده در سلول‌های گیاهی به وسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی کنترل می‌شوند

۳ تکرار در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام گرفت.

کشت و آماده سازی زنیان

برای انجام این پژوهش بذره‌های زنیان از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل تهیه و در گلدان‌ها در خاک تقریباً سبک از مخلوط مساوی ماسه الک شده، رس، گیاجاک و کود حیوانی کشت شد. پس از کشت، گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند و در شرایط یکسان در دمای روزانه ۲۵ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد رشد کردند. ۳۰ عدد بذر در هر گلدان کشت شدند، بعد از سبز شدن بذرها، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و نهایتاً در داخل هر گلدان ۸ بوته نگهداری شد. گلدان‌ها روزانه آبیاری شدند و هفته‌ای ۲ بار به آنها مقدار ۵۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند داده شد (Hogland and Arnon, 1950).

تیمار با کیتوزان

برای تهیه محلول کیتوزان (شرکت Sigma-Aldrich آمریکا)، با وزن مولکولی پایین، از روش (Khan et al., 2003) استفاده شد. برای این منظور ابتدا محلول استیک اسید یک درصد تهیه، سپس محلول کیتوزان در اسید ذکر شده تهیه گردید. اعمال محلول کیتوزان در غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm به صورت محلول‌پاشی روی سطح برگ و در طی سه روز متوالی در مرحله ۴ برگ‌گی انجام شد. سپس اندام‌های هوایی گیاه پس از تیمار کیتوزان به منظور مطالعات بعدی، در مرحله ۴ برگ‌گی برداشت شدند. به این منظور بخش هوایی گیاهان از خاک جدا گردید و برای بررسی فعالیت آنزیم‌ها و دیگر شاخص‌های فیزیولوژیک، نمونه‌ها ابتدا در نیتروژن مایع منجمد گردید و سپس در دمای ۸۰- درجه

ساز و کار تنظیم اسمزی در گیاه باشد که خود نیاز به تحقیق بیشتری دارد. تغییرات غلظت کربوهیدرات‌ها در القای ساز و کارهای تحمل در برابر تنش؛ بسیار مهم است، زیرا این ترکیبات به طور مستقیم با واکنش‌های فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، انتقال مواد فتوسنتز و تنفس در ارتباط هستند (Mckersie and Leshem, 1994). پرولین در تمام اعضای گیاه در مدت تنش وجود دارد، اگرچه تجمع در برگ‌ها سریعتر و بیشتر از نقاط دیگر صورت می‌گیرد، بیشتر فرضیه‌ها حاکی از آن است که محل تجمع پرولین در سیتوپلاسم سلول می‌باشد (Palleg and Aspinall, 1981). تجمع پرولین در شرایط تنش، بیش از سایر اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد که می‌تواند در تنظیم اسمزی و احتمالاً حفظ فعالیت آنزیمی گیاه نقش داشته باشد (Ashraf, 2004). نقش ترکیبات فنلی مربوط به خواص اکسیداسیون احیاء آنهاست که نقش مهمی در جذب و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، فرونشانی اکسیژن‌های فعال و یا پراکسیدازهای تجزیه کننده دارند (Javanmardi et al., 2002). مطالعات اخیر نشان داده‌است کیتوزان باعث افزایش میزان ترکیبات فنلی می‌شود (Esmailzadeh Bahabadi et al., 2012). در این مطالعه به منظور بررسی اثر کیتوزان بر مالون دی‌آلدئید (MDA)، میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، میزان ترکیبات فنل، کلروفیل a، b، میزان کربوهیدرات محلول و پرولین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل اجرا گردید. آزمایش با

سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سنجش مالون دی آلدئید (MDA)

برای سنجش مالون دی آلدئید به عنوان شاخص لیپید پراکسیداسیون غشای سلولی از روش هیس و پاکر (Heath and Packer, 1969) استفاده شد. به منظور اندازه‌گیری MDA میزان ۲۰۰ mg از بافت گیاهی منجمد شده با ۳ mL تری کلرو استیک اسید (TCA) ۱۰٪ سائیده شد. نمونه‌ها پس از همگن سازی، سانتریفیوژ (۱۲۰۰ rpm، به مدت ۱۵ دقیقه) شدند. به ۱ ml از نمونه‌های صاف شده، ۱ ml تیو باربیتوریک اسید (TBA) ۰/۲۵ درصد اضافه گردید و به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰°C قرار داده شدند. میزان MDA با اندازه‌گیری جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Bju1110020) در طول موج‌های ۵۳۲ nm و ۶۰۰ nm با استفاده از ضریب ثابت (ε=۱۵۵ mM⁻¹cm⁻¹) محاسبه گردید.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ فریز شده برداشت و با ۴ cc بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و محلول EDTA ۰/۱ mM در هاون سرد کاملاً ساییده، به صورت همگن در آورده شدند. مخلوط همگن از کاغذ صافی عبور و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. همه این عملیات‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. در نهایت برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش بیرز و سایزر (Beers and Sizer, 1952) در طول موج ۲۴۰ نانومتر، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از روش گیانوپولیتیس و رایس

(Giannopolitis and Ries, 1977) در طول موج ۵۶۰ نانومتر و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش ناکانو و آساد (Nakano and Asad, 1981) در طول موج ۲۹۰ نانومتر استفاده شدند.

تعیین میزان فنل کل

میزان ترکیبات فنلی کل بر اساس روش رنگ سنجی فولین - سیو کالتیو (Singleton and Rossi, 1965) و بر حسب منحنی استاندارد گالیک اسید در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۱ گرم از اندام گیاهی را در ۵ ml اتانول ۹۵ درصد سائیده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به ۱ ml محلول رویی ۱ ml اتانول ۹۵ درصد اضافه گردید و با آب مقطر دو بار تقطیر حجم محلول به ۵ ml رسانده شد. سپس ۰/۵ ml معرف فولین ۱۰ درصد و ۱ ml کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری شد و این عصاره برای سنجش فنل کل با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Bju1110020) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر استفاده شد.

اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کارتنوئید از روش لیچنتلر (Lichtenthaler, 1987) استفاده شد. بدین ترتیب که ۰/۳ گرم برگ تر گیاه وزن و سپس به تدریج با استون ۸۰ درصد سائیده شد. عمل استخراج تا حصول یک محلول سبز رنگ ادامه یافت. سپس حجم محلول با استون به ۲۵ میلی‌لیتر رسید. پس از سانتریفیوژ در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه، جذب نوری در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر (مدل Bju1110020) اندازه‌گیری شد سپس غلظت آنها بر اساس روابط زیر محاسبه گردید.

SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفت و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

تأثیر کیتوزان بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) اندام هوایی

نتایج واریانس مشاهدات نشان داد که کیتوزان تأثیر معنی داری بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین نتایج حاصل از تأثیر کیتوزان بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) اندام هوایی نشان داد با افزایش غلظت کیتوزان از صفر (نمونه شاهد) تا ۲۰۰ ppm میزان مالون دی آلدئید (MDA) از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰۰ ppm، ۱۵۰ و ۲۰۰) کیتوزان نسبت به شاهد ۳۴/۲۳، ۶۲/۵۸ و ۹۶/۷۲ درصد به ترتیب باعث افزایش معنی‌داری میزان مالون دی آلدئید (MDA) شد (شکل ۱).

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰۰ ppm، ۱۵۰ و ۲۰۰) کیتوزان نسبت به شاهد ۳۵/۳۳، ۷۲/۴۸ و ۹۱/۲۲ درصد باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) شد (شکل ۲a). نتایج حاصل از آنالیز واریانس مشاهدات مربوط به میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) نشان داد، کیتوزان باعث افزایش این صفت به طور معنی‌داری شده است (جدول ۱). بررسی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) اندام هوایی تحت تأثیر کیتوزان نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در غلظت ۲۰۰ ppm کیتوزان مشاهده شد که نسبت به شاهد ۹۱/۷۴ درصد افزایش داشت (شکل ۲b).

$$\text{Chl.a}=(12/25A663/2-2/79A648/8)$$

$$\text{Chl.b}=(21/21A646/8-5/1A663/2)$$

اندازه‌گیری مقدار کل کربوهیدرات‌های محلول

میزان کربوهیدرات‌های محلول به روش اسچلگل (Schlegel, 1956) اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ به همراه ۱۰ ml اتانول ۹۵ درصد در لوله آزمایش در بسته قرار داده، به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری و در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند. پس از سرد شدن ۱ میلی‌لیتر از این نمونه‌ها برداشته شد و به آن ۱ ml فنل ۰/۵ درصد و ۵cc اسید سولفوریک ۹۸ درصد اضافه شد. در نهایت میزان نور جذبی در ۴۸۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Bju1110020) قرائت شد، میزان کربوهیدرات‌های استخراجی بر اساس میکروگرم گلوکز در گرم وزن تر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بتز و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم از اندام هوایی و ریشه توسط ۱۰ ml میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۳ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده و در نهایت با کاغذ صافی صاف گردید. به ۲ ml از محلول حاصل، ۲ ml معرف ناین‌هیدرین اضافه و پس از قرارگیری در حمام آب جوش به مدت یک ساعت، لوله‌های محتوی محلول حاصل در یخ قرار گرفت تا سرد شدند. بعد از این مرحله، ۴ ml تولوئن اضافه گردید. از فاز رویی برای اندازه‌گیری میزان پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Bju1110020) استفاده شد. با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد. در پایان داده‌ها با استفاده از نسخه ۹/۲ نرم افزار

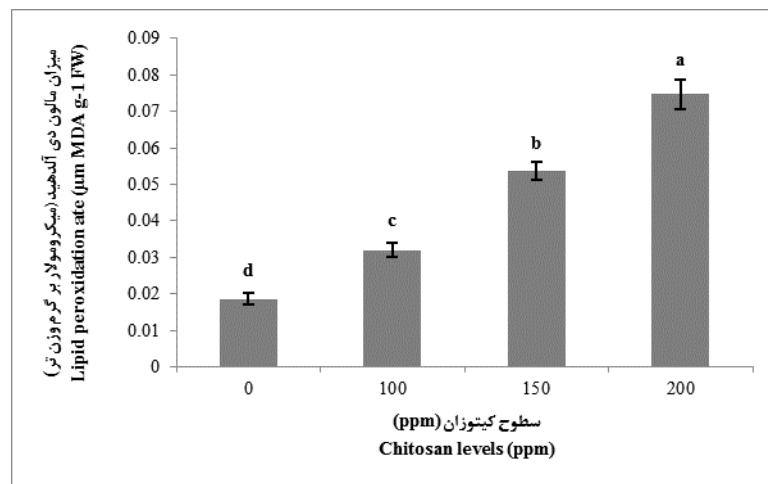
جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه زنیان.

Table 1- Variance analysis of the effect of chitosan on physiological and biochemical characterization in *Carum copticum L.*

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات Mean of Square								
		کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	مالون دی آلدئید Malondial ehvde	ترکیبات فیل کل Phenol compounds	کلروفیل b Chlorophyll	کلروفیل a Chlorophyll	پرولین Proline	کربوهیدرات Carbohydrat
تکرار Replication	2	246.79 ^{ns}	138.261 ^{ns}	13.82 ^{ns}	0.0045 ^{ns}	23.57 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.0004 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.0023 ^{ns}
کیتوزان Chitosan	3	162.56 ^{**}	176.668 ^{**}	1383.04 ^{**}	0.005 ^{**}	131.26 ^{**}	0.004 ^{**}	0.0017 ^{**}	0.0016 ^{**}	0.0019 ^{**}
خطا Error	6	4567.80	684.005	2.53	0.0007	3.31	0.0009	0.002	0.0025	0.0025
ضریب تغییرات /C.V	-	1.5	1.6	1.8	7.1	5.3	5.6	5.7	4.2	4.4

* and ** are significant at 0.05 and 0.01 probability levels, and ns is not significant.

* و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns معنی دار نیست.



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر میزان مالون دی آلدئید (MDA). حروف یکسان بیانگر عدم معنی داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

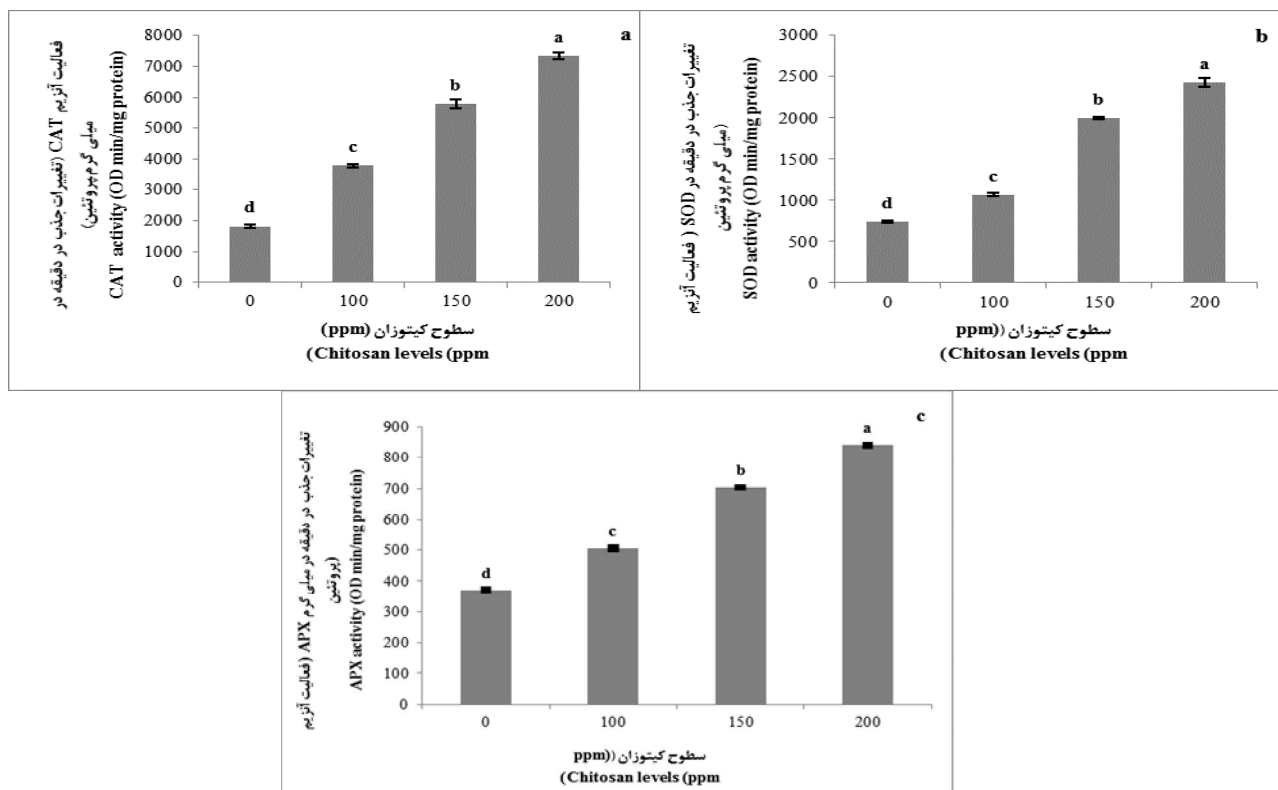
Figure 1- Effect of different concentrations of chitosan on malondialdehyde content. common letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels.

(جدول ۱). نتایج حاصل از میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) اندام هوایی تحت تاثیر کیتوزان نشان داد کیتوزان نسبت به شاهد باعث مختلف (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) کیتوزان نسبت به شاهد ۴۶/۱۸، ۷۱/۸۹ و ۹۲/۶۱ درصد باعث افزایش

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که کیتوزان تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) اندام هوایی داشت افزایش معنی داری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) گردید به طوری که غلظت‌های

(شکل ۲c).

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) شد



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (a)، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (b) و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (c). حروف یکسان بیانگر عدم معنی داری در سطح ۵ درصد می باشد.

Figure 2- Effect of different concentrations of chitosan on catalase (a), superoxide dismutase (b) and ascorbate peroxidase (c) enzymes activity. common letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels.

(Laspina *et al.*, 2005). اندازه‌گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمول‌ترین و قابل قبول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری صدمات اکسیداتیو به غشاء است (Shulaev and Oliver, 2006). بر اساس نظر مکرسی و لیشم (Mckersie and Leshem, 1994) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پراکسیزوم، سیتوزول و میتوکندری وجود دارند و سبب تبدیل H_2O_2 به H_2O و O_2 می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌است که کیتوزان به عنوان یک الیسیتور زیستی ممکن است دارای پتانسیلی برای از بین بردن توسط چندین مکانیسم توصیف شده‌است (Muzzarelli and Terbojerich, 1997; Park and)

در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرآیندهای متابولیسمی در گیاهان باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند، اما گیاهان مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی کارآمدی برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن دارند (Iturbe-ormatxe *et al.*, 1998). تحت شرایط تنش این تعادل به هم خورده و مقدار گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابند. حضور این گونه‌های فعال برای گیاه مضر بوده و موجب آسیب به ساختارهای سلولی مثل غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Kim and Thomas, 2007; Yen *et al.*, 2008). فعالیت آنتی‌اکسیدانی کیتوزان

(Kim, 2004).

کیتوزان می‌تواند رادیکال‌های آزاد OH و O_2^- را از بین ببرد و گفته شده‌است خاصیت محافظت از DNA را دارد (Harish Prashanth *et al.*, 2007). طبق تحقیقات انجام شده تیمار کیتوزان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنلی در گوجه‌فرنگی شده‌است (Liu *et al.*, 2007). همچنین طبق بررسی‌های صورت گرفته فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در ریشه بادمجان تحت تیمار با الیسیتور کیتوزان افزایش یافته‌است (Mandal, 2010). کیتوزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را در دو گونه ذرت افزایش داده‌است (Guan *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داد میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت (Mahdavi *et al.*, 2012). همچنین طی بررسی‌های انجام شده کیتوزان باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گردید (Naderi *et al.*, 2014)، که با نتایج این آزمایش مطابقت دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد میزان فعالیت هر سه آنزیم در طی تیمار با کیتوزان افزایش می‌یابد، این امر بیان میکند در گیاه زنیان تحت تیمار با کیتوزان همکاری آنزیم‌های حفاظتی مانند کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز توانست اکسیژن واکنشگر (ROS) را حذف کند و باعث بالانس همواستاتیک بین تولید و حذف اکسیژن واکنشگر (ROS) گردد و مقدار رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد، در واقع هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان با هم فعال شده و سبب کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها بر اساس عملکردشان به

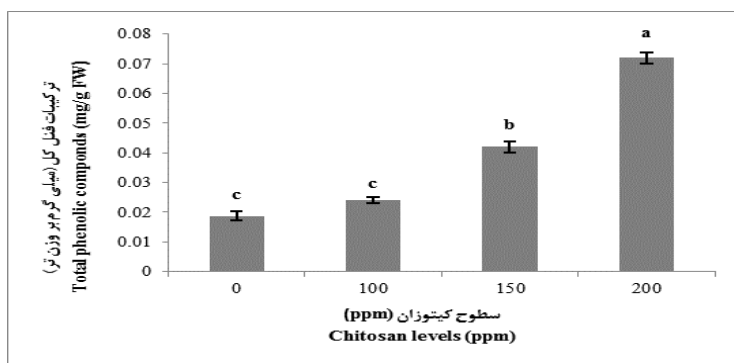
دو گروه اصلی تقسیم می‌شوند: آنتی‌اکسیدان‌های اولیه و ثانویه (Mahdavi *et al.*, 1995).

تأثیر کیتوزان بر میزان ترکیبات فنل کل

نتایج تجزیه واریانس میزان ترکیبات فنل کل نشان داد، اثر کیتوزان بر این صفت معنی‌داری بود (جدول ۱). بررسی میزان ترکیبات فنل کل اندام هوایی تحت تأثیر کیتوزان نشان داد بیشترین میزان فعالیت ترکیبات فنل کل در غلظت ۲۰۰ ppm نسبت به شاهد ۸۶/۳۵ درصد افزایش داشت (شکل ۳). آنتی‌اکسیدان‌های اولیه الکترون یا هیدروژن خود را به رادیکال‌های آزاد می‌دهند در حالیکه آنتی‌اکسیدان‌های ثانوی به عنوان همیار عمل کلاته کننده نقش خود را ایفا می‌نمایند (Gordon, 1990). فنل‌ها معمولاً به عنوان جاروب کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند (Pietta, 2000; Prakash *et al.*, 2007). گروه‌های OH فنلی از ارجح‌ترین گروه‌ها برای از دست دادن پروتون از اشکال اکسید شده تک الکترونی هستند. پایداری رادیکال‌های فنوکسیل منتج از آنها باعث افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی بیشتر ترکیب‌های دارای گروه‌های هیدروکسیل متعدد برای جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسید شده می‌گردد، همچنین از تشکیل رادیکال‌های آزاد ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری به عمل می‌آورد (Alavi *et al.*, 2010).

ترکیبات فنلی مهار کننده قوی برای تنش اکسایشی هستند و در همکاری با پراکسیدازها در جمع‌آوری یا حذف پراکسید هیدروژن شرکت می‌کنند (Kovacik *et al.*, 2009).

گیاهان ترکیبات فنلی را در پاسخ به برخی ترکیبات پیام‌رسان آزاد می‌سازند که نقش دفاعی مهمی دارند (Bais *et al.*, 2004).



شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر میزان ترکیبات فنل کل. حروف یکسان بیانگر عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figure 3- Effect of different concentrations of chitosan on total phenol compounds. common letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels.

میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید در این گیاه شده‌است که با نتایج حاضر مطابقت دارد (Khajeh and Naderi, 2014). در مطالعات انجام شده دیگر در سویا و بادام زمینی و قهوه نیز کیتوزان منجر به افزایش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید شده‌است که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Dzung and Thang, 2004, 2011).

تأثیر کیتوزان بر میزان کربوهیدرات و پروتئین

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مشاهدات نشان داد که کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین نتایج بررسی میزان کربوهیدرات اندام هوایی تحت تأثیر کیتوزان نشان داد با افزایش غلظت کیتوزان از صفر (نمونه شاهد) تا ۲۰۰ ppm میزان کربوهیدرات از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۴۳/۵، ۶۲/۱ و ۹۴/۶ ppm) کیتوزان نسبت به شاهد به ترتیب باعث افزایش معنی‌داری میزان کربوهیدرات شد (شکل ۵a). در گیاه زینان تحت تیمار کیتوزان میزان فندهای محلول در غلظت‌های بالاتر نسبت به شاهد افزایش می‌یابد. بررسی‌ها نشان داد در گیاه بادرنجبویه نیز با افزایش غلظت کیتوزان

در این بررسی مشاهده شد تیمار کیتوزان باعث افزایش معنی‌داری ترکیبات فنلی شده است. بنابراین افزایش مقدار این ترکیبات احتمالاً به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آنها در برابر ROSهاست. بررسی‌ها نشان داد کیتوزان باعث افزایش ترکیبات فنلی در کتان سفید (*Linum album*) گردید (Esmailzadeh Bahabadi et al., 2012) که با نتایج این آزمایش مطابقت نشان داد.

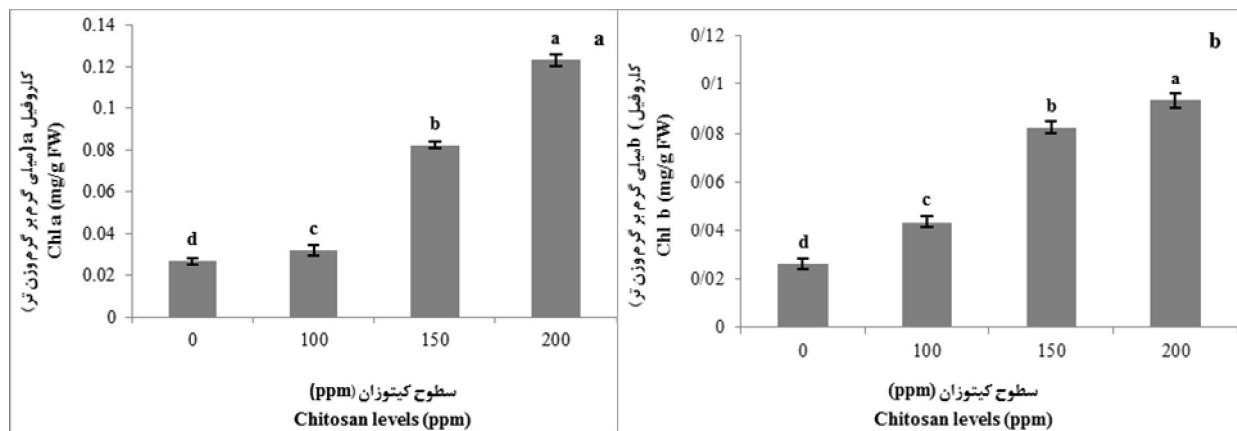
تأثیر کیتوزان بر میزان کلروفیل a و b

نتایج حاصل از آنالیز واریانس کلروفیل a و b تحت تأثیر کیتوزان نشان داد، که کیتوزان اثر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین میزان کلروفیل a و b اندام هوایی تحت تأثیر کیتوزان نشان داد میزان کلروفیل a و b در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) کیتوزان نسبت به شاهد باعث افزایش در میزان کلروفیل a و b شدند (شکل ۴a و ۴b).

در این تحقیق تحت تأثیر کیتوزان میزان رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئید تحت تأثیر کیتوزان افزایش نشان داد. بررسی تأثیر کیتوزان بر روی گیاه زینان نشان داد که کیتوزان باعث افزایش معنی‌داری

(Khajeh and Naderi, 2014).

میزان کربوهیدرات افزایش یافت



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر میزان کلروفیل a (a) و کلروفیل b (b). حروف یکسان بیانگر عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figure 4- Effect of different concentrations of chitosan on chlorophyll a (a) and chlorophyll b (b) content. common letters demonstrate not. significant at 0.05 probability levels.

تأثیر کیتوزان بر میزان پرولین اندام هوایی نشان داد با افزایش غلظت کیتوزان از صفر (نمونه شاهد) تا ۲۰۰ ppm میزان پرولین از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰۰ ppm، ۱۵۰ و ۲۰۰) کیتوزان نسبت به شاهد ۰/۸، ۰/۴۹، ۰/۷۱ و ۰/۹۱ درصد به ترتیب باعث افزایش معنی‌داری میزان پرولین شد (شکل ۵b).

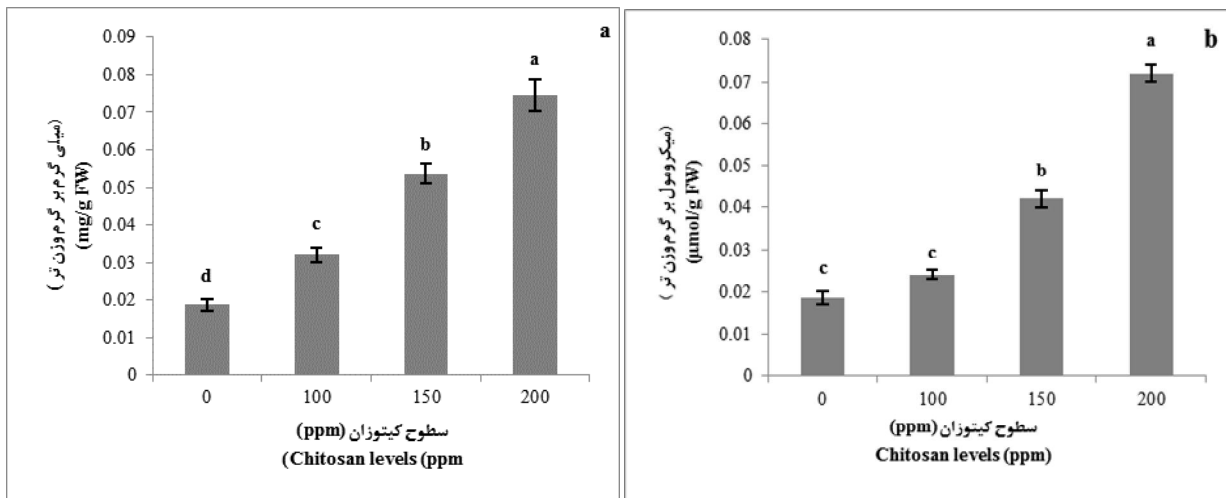
پرولین می‌تواند ترکیباتی نظیر پروتئین‌های ساختاری را از طریق حفظ ثبات ساختمانی حمایت کند (Bates et al., 1973). همچنین پرولین تجمع یافته در گیاهان، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌گردد (Synnerri et al., 1993).

تحقیقات نشان داد میزان پرولین تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Mahdavi et al., 2012). خواجه و نادری (Khajeh and Naderi, 2014) طی آزمایشی در گیاه بادرنجبویه نشان دادند کیتوزان باعث افزایش میزان پرولین شد که با تحقیق

در واقع با افزایش غلظت کیتوزان، تغییرات فرا ساختاری در اندام‌های سلولی از قبیل تونوپلاست و آنزیم‌های مسیر متابولیسم قندها ایجاد می‌شود. در واقع این نوع مکانیسم تطابقی و سازگار یافته برای حفظ و نگهداری پتانسیل اسمزی تحت تیمار کیتوزان می‌باشد. در این بررسی افزایش محتوای قندهای محلول تحت تیمار کیتوزان مشاهده شد که احتمالاً به دلیل هیدرولیز نشاسته است (Kovacic et al., 2009). مکانیزم دفاعی گیاه در برابر تنش نیاز به نوعی سازش اسمزی دارد. این سازش اسمزی می‌تواند از طریق سنتز ترکیبات محلول درون سلولی تامین گردد (Serrano et al., 1999). تحقیقات نشان داد میزان قندهای محلول تحت تأثیر تیمار کیتوزان در گیاهچه‌های گلرنگ افزایش یافت که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت (Mahdavi et al., 2012).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر میزان پرولین در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین نتایج حاصل از

حاضر مطابقت نشان داد. در این بررسی مشاهده شد که کیتوزان در غلظت‌های بالا باعث افزایش میزان پرولین شد.



شکل ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر میزان کربوهیدرات (a) و میزان پرولین (b). حروف یکسان بیانگر عدم معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد.

Figure 5- Effect of different concentrations of chitosan on carbohydrate (a) and proline (b) content. common letters demonstrate not significant at 0.05 probability levels.

نتیجه‌گیری کلی

(۱۵۰ تا ۲۰۰ ppm) از طریق افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تنظیم اسمزی با افزایش برخی ترکیبات شیمیایی می‌تواند به عنوان الیسیاتور زیستی کارآمد در سیستم دفاعی و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تأثیر گذار باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات و همکاری صمیمانه آقای محسن نادری و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل تقدیر و تشکر می‌گردد.

نتایج این آزمایش تاثیر کیتوزان بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه زنیان را مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد تحت تاثیر کیتوزان میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنلی، کلروفیل a، b، کربوهیدرات و پرولین نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافته که حداکثر میزان در غلظت ۲۰۰ ppm بود. بر اساس نتایج حاصل به نظر می‌رسد که استفاده از کیتوزان با غلظت‌های مناسب

References

فهرست منابع

- Alavi, L., Barzegar, M., Jabbari, A. and Naghdi Badi, H. 2010. Effect of heat treatment on chemical composition and antioxidant property of *Thymus daenensis* essential oil. *Journal of Medicinal Plants*, 9(35): 129-138. (In Persian)
- Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutase (SOD) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1331-1341.
- Ashraf, M. 2004. Some important physiological criteria for salt tolerance in plants. *Flora*, 199: 361-376.

- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M. and Vivanco, J.M.** 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 9: 26-32.
- Bates, L.S., Waldren, S.P. and Teare, I.D.** 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant soil*, 39: 205-207.
- Beers, G.R. and Sizer, I.W.** 1952. Aspects of photometric method for measuring the breakdown to hydrogen peroxide by catalase. *Biology. Chemistry*, 195: 133-140.
- Breusegem, F.V., James, F., Dat, D. and Inze, D.** 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, 161:423-431.
- Cheng, X., Zhou, U. and Cui, X.** 2006. Improvement of phenylethanoid glycosides biosynthesis in *Cistanchedeserticolacell* suspension cultures by chitosan elicitor. *Journal of Biotechnology*, 121: 253-260.
- ChevallerMonimh, A.** 1997. The Encyclopedia of Medicinal Plants. Borling Kindersley, London, PP: 335.
- Davazdah Imami, S. and Majnoun Hosseini, N.** 2008. Farming and producing medical plants. Tehran University Press, PP: 300.
- Delauney, A.J. and Verma, D.P.S.** 1993. Proline biosynthesis and degradation in plants. *Journal of Plant Physiology*, 4: 215-223.
- Esmailzadeh Bahabadi, S., Sharifi, M., Safaie, N. and Behmanesh, M.** 2012. Enhancement of lignin and phenylpropanoid compounds production by chitosan in *Linum album* cell culture. *Journal of Plant Biology*, 11: 13-26. (In Persian)
- Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K.** 1977. Superoxide dismutase. 1. Occurrence in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 59: 309-314.
- Gordon, M.H.** 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro: 1-18. In: Hudson, B.J.F. (eds). Food Antioxidant, Elsevier Applied Science. New York: NY, USA, PP: 329.
- Guan, Y.J.J., Hu, X., Wang, J. and Shao, C.X.** 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *Plant Science*, B10:427-433.
- Guo, Z.Y., Xing, R.E., Liu, S., Yu, H.H., Wang, P.B., Li, C.P. and Li, P.C.** 2005. The synthesis and antioxidant activity of the Schiff bases of chitosan and carboxymethyl chitosan. *Journal of Medicinal Chemistry*, 15:4,600-4,603.
- Hanson, A.D. and Hitz, W.D.** 1982. Metabolic responses of plant water deficit. *Journal of Plant Physiology*, 23: 163-203.
- 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.
- Heath, R.L. and Packer, L.** 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast, I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Journal of Biochemistry Biophysical*, 125: 189-198.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I.** 1950. The water culture method for growing plant without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*, 347:32-33.
- Iturbe-ormatxe, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C. and Becana, M.** 1998. Oxidative damage in pea plant exposed to water deficit or paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 116: 173-181.

- Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P. and Vivanco, J.M.** 2002. Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5878-5883.
- Jones, M.M. and Turner, N.C.** 1980. Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficits. *Journal of Plant Physiology*, 7:181-192.
- Kang, S.M., Jung, H.Y., Kang, Y.M., Yun, D.J., Bahk, J.D., Yang, J.K. and Choi, M.S.** 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopoliaparviflora*. *Plant Science*, 166: 745-751.
- Khajeh, H. and Naderi, S.** 2014. The effect of chitosan on some antioxidant enzymes activity and biochemistry characterization in Melissa (*Melissa officinalis*). *Research Journal of Crop Science in Arid Area*, 1: 100-116. (In Persian)
- Khan, W., Prithviraj, B. and Smith, D.L.** 2003. Chitosan and chitinoligomers increase phenylalanine ammonia-lyase and tyrosine ammonia-lyase activities in soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 160: 859-63.
- Kim, K.W. and Thomas, R.L.** 2007. Antioxidative activity of chitosans with varying molecular weights. *Journal of Food Chemistry*, 101:308-313.
- Kovacik, J., Backor, M., Strnad, M. and Repek, M.** 2009. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Cell Report*, 28: 135-143.
- Laspina, N.V., Groppa, M.D., Tomaro, M.L. and Benavides, M.P.** 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science*, 169: 323-330.
- Lichtenthaler, H.K.** 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.
- Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y.** 2007. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Journal of Postharvest Biology. Technology*, 44: 300-306.
- Loza-Tavera H.** 1999. Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties. *Advance Experimental Medicine and Biology*, 464: 49-62.
- Madhavi, D.L., Singhal, R.S. and Kulkarni, P.R.** 1995. Technological aspects of food antioxidants: 158-266. In: Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. (eds.). *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekker, Inc., New York, PP: 512.
- Mahdavi, B., ModarresSanavy, S.A.M., Aghaalikhani, M. and Sharifi, M.** 2011. Effect of water stress and chitosan on Germination and proline of seedling in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Crop Improvement*, 25:728-741.
- Mandal, S.** 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *Journal of Biotechnology*, 9:8038-8047.
- Mckersie, D.B. and Leshem, Y.** 1994. *Stress and Coping in Cultivated Plants*. Kluwer Acad. Pub, London.
- Mirzavand Boroujerdi, S.** 1992. The study and comparison of microscopical and phytochemical characteristics of Enison's, *carum copticum*. Medicine. Ph.D thesis, Medicine Faculty, Esfahan Medical Sciences University, PP: 52.
- Momeni, T. and Shahrokhi, N.** 1991. *Plant essential oils and their medical effect*. Tehran University, PP: 127.
- Morgan, J.M.** 1992. Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. *Journal of Plant Physiology*, 19: 67-76.
- Muzzarelli, R.A.A., Muzzarelli, C.M. and Terbojerich, M.** 1997. Chitin chemistry, upgrading a renewable source. *Carbohydrate*, 19:10-17.

- Naderi, S., Fakheri, B. and Esmailzadeh Bahabadi, S.** 2014. Increasing of Chavicol o-Methyl Transfrase Gene Expression and Catalase and Ascorbate Peroxidase Enzymes Activity of *Ocimum basilicum* by Chitosan. *Journal of Crop Biotechnology*, 6: 1-9. (In Persian)
- Nayyar, H.** 2003. Acclimation of osmolytes and osmotic adjustmant in water-stressed wheat and maiz as affected by calcium and its antagonists. *Journal of Experimental Botany*, 50: 253-264.
- Nakano, Y. and Asada, K.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidaes in spinach Cell Environment, 16: 15-24.
- Palleg, L.G. and Aspinall, D.** 1981. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic press, PP: 205-241.
- Park, P.J., Je, J.Y. and Kim, S.K.** 2004. Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosans using an ESR spectrometer. *Carbohydrate*, 55:17-22.
- Pietta, P.G.** 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7): 1035-1042.
- Prakash, D., Suri, S., Upadhyay, G. and Singh, B.N.** 2007. Total phenol, antioxidant, and free radical scavenging activities of some medicinal plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58: 18-28.
- Pu, G.B., Dong-Ming, M., Chen, J.L. Ma, L.Q. Wang, H. and Li, G.F.** 2009. Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in Artemisia annual. *Plant Cell Report*, 28: 1127-1135.
- Sahaf, Z., Moharami Pour, S., Negahban, M. and Sahar Khiz, M.J.** 2004. Effect of *Carum copticum* essential oil on *Tribolium castaneum* Herbst. *Second Medical Plants Conference*. Shahed University, PP: 115: 7-8.
- Sanchez, F.J., Manzanares, M., Andres, E.F., Tenorio J.L. Ayerbe, L. and Andres, E.F.** 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble suger and prolin accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*, 59: 225-235.
- Schlegel, H.G.** 1956. Die verwertung organis chersauren durch chlorella in lincht. *Planta*, 47: 510-516.
- Shulaev, V. and Oliver, D.J.** 2006. Metabolic and proteomic markers for oxidative stress. New tools for reactive oxygen species research. *Journal of Plant Physiology*, 141: 367-372.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.R.** 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungestic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- Vangronsveld, J. and Clijsters, H.** 1994. Toxic effects of metals. In: Plants and the Chemical Elements: Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity. Edited by M.E. Farago, Wienheim.
- Vranova, E., Inze, D. and Breusegem, V.F.** 2002. Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1227-1236.
- Yen, M.T., Yang, J.H. and Mau, J.L.** 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. *Carbohydrat*, 74: 840-844.
- Zhao, J., Davis, L.C. and Verpoorte, R.** 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Journal of Biotechnology Advances*, 23: 283-333.

The effect of chitosan on some physiological and biochemical characteristics of Ajowan (*Carum copticum* L.)

Salehe Naderi^{1*}, Barat Ali Fakheri² and Mojtaba Seraji³

- 1- Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology and Research Center of Biotechnology, University of Zabol
- 2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology and Research Center of Biotechnology, University of Zabol
- 3- Former MSc. student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol

Received: 2015/02/09

Accepted: 2015/10/07

Abstract

Chitosan is a glucosamine polysaccharide deacetylated form of chitin species and could be used as biotic elicitor to improve secondary metabolites. In order to study the effect of chitosan on malondialdehyde (MDA), antioxidant enzymes activity such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX), phenol compounds, chlorophyll a, b, carbohydrate and proline in ajowan, this study was conducted as randomized complete block design (RCBD) with three replications, in Biocenter of University of Zabol. Chitosan had four levels (0, 100, 150 and 200 ppm). In comparison with control, the results showed that malondialdehyde (MDA), antioxidant enzymes activity such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX), phenol compounds, chlorophyll a, b, carbohydrate and proline increased 72.96, 92.22, 91.74, 92.61, 86.35, 73.52, 81.16, 94.6 and 91.4%, respectively. When chitosan increased 200 ppm. It seems that in concentration higher than 100 ppm, chitosan, as a biotic elicitor, increases antioxidant enzymes activity and secondary metabolites production in four stages of ajowan.

Keywords: Antioxidative enzymes activity, *Carum copticum*, Chitosan, Phenol compounds, Malondialdehyde.