دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال هشتم، شماره بیست و هفت، ۱۳۹۵

تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کم آبی

فاطمه ملک پور[۱]، اعظم سلیمی[۲]، عبدالله قاسمی پیربلوطی[۳]

تاریخ دریافت: ۹٤/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۸/۲۱

چکیده

گیاهان دارویی واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی در عملکرد و مواد مؤثر تولیدی دارند. ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به عنوان یک گیاه دارویی کاربرد زیادی در درمان بسیاری از بیماری‌ها دارد. کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، باعث تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاهان می‌شود. این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش کمبودآب (۱۰۰، ٦۰ و ۳۰ درصدظرفیت زراعی) و محرک کیتوزان (۰، ۰/۲ و ۰/٤ گرم در لیتر) بر روی ویژگیهای رشدونمو گیاه ریحان در مزرعه دانشگاه آزاداسلامی شهرکرد در سال ۱۳۹۳ اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار اجرا گردید. پارامترهای مورفولوژیکی (طول ساقه، تعداد شاخه جانبی، سطح برگ، وزن تر وخشک) و فیزیولوژیکی (میزان کلروفیل، کارتنوئید، پرولین، قندهای محلول، فنل و فلاونوئید) اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس نشان داد سطوح مختلف خشکی و کیتوزان و اثرات متقابل آنها بر برخی پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه مؤثر بودند. تنش خشکی باعث کاهش در رنگیزه‌ها، سطح برگ، طول ساقه، وزن تر ریشه و اندام هوایی و افزایش در میزان پرولین، قندهای محلول و محتوی فنل و فلاونوئید گردید. تیمار با کیتوزان باعث افزایش وزن تر ریشه و ساقه، قندهای محلول، پرولین، فنل و فلاونوئید گیاهان در شرایط تنش و غیرتنش گردید. باتوجه به اینکه خشکی از ویژگی‌های بارز جغرافیایی کشور ما می باشد و از این پدیده‌ی طبیعی و غیرقابل تغییر، گریزی نیست، بنابراین جهت مقابله و کاهش خسارت کمبود آب استفاده از پلیمرزیستی کیتوزان، به عنوان ماده طبیعی کاهش دهنده تنش خشکی در ریحان، حائز اهمیت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، ریحان بنفش، کیتوزان

ملک پور، ف.، ا. سلیمی، ع. قاسمی پیربلوطی. ۱۳۹۵. تأثیر محرک زیستی کیتوزان بر صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کم آبی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی، ۲۷: ۷۱-٥٦.

۱-دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک Fmalekpoor87@yahoo.com

۲- استادیار گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- گروه گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، ایران

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به عنوان یک گیاه دارویی و معطر می‌باشد که کاربرد زیادی در درمان بسیاری از بیماری‌ها، از جمله ناراحتی‌های کلیوی، سردرد، سرفه، اسهال، بزرگ شدن طحال و برخی ناراحتی‌های قلبی دارد (سجادی، ۲۰۰۶) در طب سنتی از این گیاه به عنوان خلط آور، مدر، ضدنفخ، تسکین دهنده درد معده و محرک استفاده می‌شود. از طرف دیگر به خاطر اینکه منبع ترکیبات حلقوی می-باشد، عملکرد ضدباکتری، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در صنایع غذایی، بهداشتی، آرایشی و غیره نیز کاربرد دارد (لابرا و همکاران، ۲۰۰٤).

شناخت عوامل محیطی، نقش مهمی در موفقیت کشت گیاهان دارویی دارد (امیدبیگی، ۱۳۸٤)، همین امر نیاز به شناخت اثر عوامل محیطی بر کارکرد گیاه و همچنین عکس العمل‌های گیاه به عوامل محیطی را افزایش می‌دهد. آب، از جمله عوامل مؤثر بر رشد و نمو و تولید مواد مؤثر گیاهان دارویی و معطر است (هاشمی دزفولی و کوچکی، ۱۳۷٤). همان طور که مدل‌های کنونی تغییر اقلیم پیش بینی می‌کنند، پراکنش و شدت خشکی در بسیاری از مناطق جهان رو به افزایش است و در حدود یک سوم اراضی جهان با کمبود بارندگی مواجه است. کشور ما نیز در بخشی از کره زمین قرار گرفته که در بسیاری از نقاط آن نزولات جوی نیاز آبی گیاهان زراعی و دارویی را تأمین نمی‌کند (حسنی و امیدبیگی، ۱۳۸۱). عدم بارندگی کافی و توزیع غیر یکنواخت آن در طول فصل رشد، باعث شده است که نیاز آبی گیاهان به قدر کافی تأمین نگردد. بنابراین قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش خشکی به خصوص در برخی از مواقع سال امری اجتناب ناپذیر است. کاهش محتوای آب در بافت‌های گیاهان باعث محدود شدن رشد و برخی تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک در آنها می گردد. با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان، می توان واکنش آنها را نسبت به تنش‌های محیطی ارزیابی نمود (حسنی و امیدبیگی، ۱۳۸۱).

عکس العمل گیاهان دارویی به تنش رطوبتی بسته به شدت و دوره تنش و همچنین گونه و مرحله رشدی گیاه به میزان قابل ملاحظه ای متفاوت است. کاهش تورژسانس اولین اثر تنش آبی است که کاهش سرعت نمو، رشد طولی ساقه، رشد برگ و همچنین کاهش قطر منفذ روزنه از آن ناشی می‌شود. کاهش تورژسانس ممکن است با تقلیل اندازه سلولی و کاهش سطح برگ همراه باشد. متعاقب کاهش سطح برگ در اثر تنش، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و این اساس کاهش رشد در شرایط خشکی است. مطالعات نشان می‌دهد که تنش ناشی از کمبود آب در گیاهان همچنین باعث تخریب غشای سلولی، تخریب و کاهش پروتئین‌ها، تخریب آنزیم‌ها، تولید مواد سمی و اختلالات هورمونی از جمله افزایش اسیدآبسیزیک و کاهش تحریک کننده‌های رشد، آسیب به رنگیزه‌ها و پلاستیدها، کاهش مقدار و سنتز کلروفیل، کاهش رشد ریشه و گل‌های تلقیح شده می‌شود (لویت، ۱۹۸۰). تنش آب، بخصوص با تولید گونه های اکسیژن فعال (ROS)[1] در تیلاکوئیدها، قادر به کاهش تراکم بافت کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد. در این شرایط به دلیل بسته شدن روزنه‌ها در طول دوره تنش و تغییر کارآیی مصرف آب، ماده خشک تولیدی گیاه کاهش می‌یابد (کیانی و همکاران، ۲۰۰۸).

لباسچی و شریفی عاشورآبادی (۱۳۸۳) در بررسی اثر تیمارهای مختلف آبیاری ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی بر گیاهان دارویی اسفرزه، بومادران، مریم گلی، همیشه بهار و بابونه مشاهده کردند که با کاهش میزان قابلیت دسترسی به آب تشدید (تنش خشکی) از وزن اندام هوایی، ارتفاع بوته‌ها و عملکرد دانه آنها کاسته می شود. مشابه همین آزمایش، حسنی و همکاران (۱۳۸۲) با تحقیق در مورد گیاه دارویی ریحان گزارش کردند که با کاهش مقدار آب خاک، ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، عملکرد دانه و عملکرد اسانس این گیاه کاهش یافت. همچنین تنش آبی اثر معنی داری بر میزان کلروفیل، انباشت پرولین، قندهای محلول، مقدار و عملکرد اسانس گیاه ریحان دارد. بررسی‌ها نشان داد رشد گیاه (شامل وزن قسمت هوایی و ریشه، تعداد برگ) در سه کولتیوار جعفری با افزایش تنش خشکی کاهش می‌یابد (پتروپولوس، ۲۰۰۸).

گونه‌های مختلف گیاهی دامنه وسیعی از فرآیندهای مقاومت به خشکی را نشان می‌دهند که منجر به ایجاد سازگاری‌های ریخت شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد. به طور کلی گیاه به هنگام مواجه با شرایط خشکی، مکانیسم‌های مختلفی را به خدمت می‌گیرد. یکی از مکانیسم‌های کارآمدی که گیاه در شرایط کمبود آب از آن بهره می‌گیرد، تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی یک پدیده فیزیولوژیکی است که در طی آن پتانسیل اسمزی بافت‌های تحت تنش در اثر انباشت یکسری مواد اسمزی در سلول‌ها کاهش می‌یابد و بنابراین فشار تورگر سلولها در حد مطلوب نگهداری می‌شود. این مواد اسمزی عمدتاً شامل برخی از عناصر غذایی (مانند پتاسیم، سدیم و کلسیم) و برخی متابولیت‌ها نظیر قندها (به ویژه مونوساکاریدها)، اسیدهای آمینه (خصوصاً پرولین) و اسیدهای آلی می‌باشد (آرچبولد و زنگ، ۱۹۹۲).

[1] Reactive oxygen species

یکی از راهکارهای مؤثر برای حفظ گیاه در شرایط تنش خشکی استفاده از مواد ضدتعرق، از جمله محرک کیتوزان می‌باشد که باعث می‌شود تبخیر آب از سطح گیاه بسیار محدود شود. کیتوزان از جمله محرک های زیستی می‌باشد که باعث تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاهان می‌شود. کیتوزان از ترکیبات اصلی دیواره سلولی بسیاری از گونه‌های قارچی، میگو، خرچنگ و غیره می‌باشد (جورج و رابرتس، ۱۹۹۲). در کشاورزی، کیتوزان به صورت پوشش بر روی بذر، برگ و میوه استفاده می‌شود. همچنین به عنوان کود در کنترل آزادسازی مواد شیمیایی، برای افزایش تولید گیاه، جهت تحریک ایمنی گیاه، برای محافظت گیاه در مقابل میکروارگانیسم‌ها و برای تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه استفاده می‌شود. کیتوزان از طرف دیگر می‌تواند به عنوان جاذب‌الرطوبه عمل کند.

در یک مطالعه بیتلی و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از محلول پاشی کیتوزان بسته شدن روزنه ها و کاهش تعرق در گیاه فلفل را باعث شدند و در نتیجه استفاده از آب را ۴۳-۲۶٪ کاهش دادند، در حالی که عملکرد تغییر محسوسی نداشت و ثابت کردند می‌توان از محرک کیتوزان به عنوان یک ضد تعرق مؤثر برای حفظ آب در کشاورزی استفاده کرد. عملکرد ضد تعرق کیتوزان را می‌توان به دخالت کیتوزان در مسیرهای ABA نسبت داد که باعث بسته شدن روزنه و در نتیجه کاهش تعرق می‌شوند (ویلمر و پریکر، ۱۹۹۶). محققی دیگر نیز دریافت که محلول‌پاشی کیتوزان روی برگ قهوه میزان تعرق را در برگ‌ها به میزان ۱۱ درصد کاهش می‌دهد و نتیجه گرفت که کاربرد اولیگومر کیتوزان مقاومت به خشکی را در گیاه قهوه افزایش می‌دهد (نم، ۲۰۰۸).

هِنگ و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی اثر محرک کیتوزان بر گیاه دارویی پونه *Greek oregano* گزارش نمودند که ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک گیاه با مصرف محرک کیتوزان افزایش یافت. دزنگ (۲۰۱۱) گزارش نمود که کاربرد 60 ppm کیتوزان، ارتفاع و عملکرد ماده خشک قهوه را افزایش داد. علی و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که تجمع ماده خشک ارقام سویا در خاک مخلوط شده با کیتوزان ۰/۱ درصد، افزایش می یابد. همچنین مصرف کیتوزان در کلم چینی وزن تر گیاه را افزایش می دهد (اویانگ و لانگلی، ۲۰۰۳). نتایج هیدالگو و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد که تیمار بذرهای گوجه فرنگی با کیتوزان وزن خشک و قطر ساقه را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می دهد. در پژوهش دیگری اثر کاربرد کیتوزان روی رشد و عملکرد تعدادی از گیاهان مانند سویا، برنج، سیب زمینی، کاهو و ترپچه مطالعه گردید (چیبو و شیبایاما، ۲۰۰۳). این محققین کیتوزان را به میزان ۰/۱ تا ۰/۵ درصد با خاک مخلوط کرد. آنها دریافتند که کیتوزان شدیداً بر رشد گیاهان مؤثر است. کاربرد ۰/۵ درصد کیتوزان برای رشد سویا و برنج مناسب بود، اما غلظت ۰/۱ درصد آن بیشتر روی کاهو و سیب‌زمینی تأثیر داشت. سطح برگ کاهو به میزان ۵۰ تا۶۰ درصد نسبت به شاهد بعد از سه بار محلول‌پاشی با ۰/۱ درصد کیتوزان افزایش یافت و سطح برگ تربچه نیز به میزان ۱۰۰ درصد با غلظت ۰/۵ درصد درصد کیتوزان افزایش نشان داد.

از آن‌جایی که بیشتر مناطق ایران جز اقلیم خشک و نیمه خشک می‌باشد و طی چند سال اخیر کاهش بارندگی منجر به خشکسالی و سبب خسارات فراوانی بر تولید محصولات کشاورزی در کشور شده است، در این تحقیق اثر تنش خشکی بر گیاه دارویی ریحان بنفش همراه با کاربرد محلول پاشی کیتوزان مورد بررسی قرار گرفت. ممکن است مصرف این محرک بتواند به عنوان راهکاری جهت افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی مطرح باشد و مصرف این محرک شاید بتواند منجر به کاهش اثرات منفی تنش خشکی گردد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش کمبود آب و محرک کیتوزان بر روی گیاه دارویی ریحان در بهار ۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی، با سه تکرار طراحی و اجرا گردید، تیمارها شامل تنش خشکی (در ۳ سطح ۳۰، ۶۰ و۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و کیتوزان در ۳ سطح (۰، ۰/۲ و ۰/۴ گرم در لیتر) بودند. رقم مورد استفاده، بنفش بود که بذرهای آن از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. برای گلدان‌ها از خاک مزرعه به همراه کود حیوانی پوسیده با نسبت ۳/۱ استفاده شد. خصوصیات خاک مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است.

جدول۱- خصوصیات خاک مورد استفاده

بافت خاک	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	P (kg/g)	K (kg/g)	%N	%OC	pH	EC(dS/m)
رس- سیلتی	۱/۱۱	٦/٥١	۰/٤٨	١١/٢٠	٦٩٤/٠٠	۰/۰١	۰/٨	٧/٢٣	١/٣٥

پس از آماده سازی گلدان‌ها در داخل هر گلدان تعدادی بذر کاشه و پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردید. تا یک ماه پس از کاشت بذور (مرحله ٦ تا ٨ برگی شدن بوته‌ها)، گلدان‌ها به طور مساوی به وسیله آب‌پاش دستی آبیاری می‌شدند و از این مرحله به بعد، تیمارهای آبیاری اعمال شد. تیمار کیتوزان نیز به صورت محلول پاشی، طی سه مرحله، رویشی، قبل از گلدهی و ۵۰٪ گلدهی انجام گرفت. پس از اعمال آخرین تیمار کیتوزان نمونه‌ها بـرای آنالیزهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی برداشت شدند. وزن تر اندام هوایی و ریشه اندازه گیری شد.

اندازه گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش آرنون (١٩٤٩) انجام گرفت و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میلی‌گرم بـر گرم وزن تر محاسبه گردید. اندازه‌گیری کلروفیل‌ها و کارتنوئید با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و در دو طول موج ٦٤٥، ٦٦٣ و ٤٧٠ انجام گرفت و میزان آنها بر حسب واحد میلی گرم بر گرم وزن تر ($mg\ g^{-1}$ F.W) بیان شد.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645})\ V / 100W$$
$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663})\ V / 100W$$
$$\text{Carotenoides} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg chl. a}) - 104(\text{mg chl. b}) / 227$$

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل: اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش سینگلتون و روسی (١٩٦٥)، انجام گرفـت. مقدار ۰/۵ میلی لیتر عصاره را با ۵ میلی لیتر محلول فولین سیکالچو مخلوط کرده، سپس مقدار ۳ میلی‌لیتر محلول ۲٪ کربنات‌سدیم را به محلول عصاره اضافه کرده، که محلول آبی‌رنگ تشکیل شد. سپس میزان جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر نوری در طول موج ٧٦٠ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی گرم بر گرم عصاره محاسبه گردید.

سنجش میزان فلاونوئید: سنجش میزان فلاونوئیدها به روش رنگ سنجی آلومینیم کلراید با روش چنگ و همکاران (٢٠٠٢) انجام پذیرفت. به ۱ میلی‌لیتر از نمونه، ۲ میلی‌لیتر از محلول کلریدآلومینیم ۲ درصد AlCl3.6H2O (W/V) اضافه کرده، سپس ٦ سی‌سی محلول استات پتاسیم ۵ درصد به آن اضافه شد و پس از ٤٠ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در طول موج ٤١٥ نانومتر خوانده و ثبت گردید. سپس با استفاده از منحنی استاندارد روتین، مقادیر فلاونوئیدهای هر عصاره بر حسب معادل میلی‌گرم روتین در یک گرم عصارهٔ خشک گیاه محاسبه و گزارش گردید.

اندازه گیری مقدار پرولین: سنجش میزان پرولین بر اساس روش بتس (١٩٧٣) انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی با ١٠ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده گردید. از مخلوط همگن حاصل پس از صاف کردن، ۲ میلی لیتر برداشته شد و پس از افزودن ۲ میلی لیتر معرف اسید نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص در بن ماری با دمای ١٠٠ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. سپس آن ها را در حمام آب یخ گذاشته و پس از اضافه کردن ٤ میلی لیتر تولوئن، مقدار جذب در طول موج ٥٢٠ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به دست آمد.

اندازه گیری میزان کل قندهای محلول: اندازه گیری میزان کل قندهای محلول به روش تغییر داده شده اشلگیل (١٩٨٦) انجام شد. در این روش به ۰/۱ گرم ماده خشک گیاه ١٥ میلی‌لیتر اتانول۸۰٪ اضافه کرده، پس از یک هفته، از محلول روی نمونه ها یک میلی لیتر برداشته شد و حجم آن ها با آب مقطر به ۲ میلی لیتر رسانده شد. پس از اضافه کردن ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک غلیظ میزان جذب به وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ٤٨٥ نانومتر خوانده شد و در انتها میزان قند هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج گزارش شده برای هر گروه تیماری میانگین سه تکرار می‌باشند. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SASانجام گرفت. آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD, $p< 0.05$) انجام شد. از نرم افزار Excel جهت رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج و بحث

خصوصیات مورفولوژی و رشد

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) بر برخی از صفات از جمله طول ساقه و گل آذین، تعداد شاخه جانبی، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و همچنین وزن تر و خشک کل داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین داده ها (شکل۱) نشان داد، تنش خشکی (۳۰ و ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه گردید، که نشان دهنده کاهش تقسیم و رشد سلولی گیاه در طی تنش خشکی می‌باشد. همچنین می‌توان گفت علت کاهش ارتفاع کاهش فشار تورژسانس و متعاقب آن کاهش تقسیم و بزرگ شدن سلولی در شرایط تنش خشکی می‌باشد (کابوسلی و همکاران، ۲۰۰۲). تنش خشکی (۶۰٪ ظرفیت زراعی) همچنین باعث کاهش شدید تعداد شاخه‌های جانبی می‌گردد. شاخه‌دهی زیاد تحت شرایط تنش خشکی یک صفت نامطلوب به حساب می‌آید، زیرا باعث مصرف بیهوده رطوبت خاک می‌گردد. محدود شدن شاخه‌دهی در شرایط تنش خشکی در گیاه می‌تواند به عنوان یک مکانیسم سازگاری باشد که به وسیله آن گیاه تلاش می‌کند تا آب را برای مرحله بحرانی‌تر نمو نظیر مرحله گلدهی حفظ نماید. علاوه بر آن سطح برگ‌ها نیز به صورت معنی‌داری با اعمال تیمار تنش کاهش یافت. نمودار مقایسه میانگین (شکل۱) نشان داد که بیشترین و کمترین سطح برگ به ترتیب در شرایط ۱۰۰٪ و ۳۰٪ ظرفیت زراعی بدست آمد. به طور کلی، سطح برگ با خشک شدن خاک کاهش می‌یابد (ردی و همکاران، ۲۰۰۴). کاهش سطح برگ در گونه‌های زیادی در شرایط خشکی گزارش شده است (هانگ‌بو و همکاران، ۲۰۰۸). انعطاف پذیری سطح برگ جهت حفظ و کنترل آب در گیاهان اهمیت زیادی دارد. با توجه به اینکه کاهش سطح برگ منجر به کاهش عملکرد از طریق کاهش فتوسنتز می‌شود، اهمیت زیادی دارد. گسترش سطح برگ به تورژسانس برگ بستگی دارد که تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرد (ردی و همکاران، ۲۰۰۴). به طورکلی کاهش سطح برگ ها و تعداد برگ ها به عنوان یک مکانیسم سازگاری برای کاهش اتلاف آب از برگ ها در شرایط تنش خشکی در نظر گرفته می شود. همچنین تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار دیگر صفات رشد از جمله میزان وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گردید. نمودار مقایسه میانگین صفات مذکور نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار در صفات مذکور به ترتیب در تیمارهای شاهد و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل۱). رشد سلول مهمترین فرآیند است که با تنش آبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. کاهش رشد سلول منجر به کاهش اندازه برگ می‌شود. کاهش سطح برگ، به دنبال آن کاهش سطح جذب نور خورشید و به دنبال آن کاهش سطح فتوسنتزی گیاه اتفاق می‌افتد و نهایتاً منجر به کاهش تولید ماده تر و خشک گیاه می‌گردد. همچنین در شرایط تنش خشکی گیاه جهت حفظ آب سلول اندام‌های مختلف روزنه‌های خود را می بندد، در نتیجه میزان فتوسنتز به دلیل کمبود میزان دی اکسید کربن کاهش می‌یابد (پینهرو و همکاران، ۲۰۰۴). از طرف دیگر تنش خشکی عموماً باعث تخریب و شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل شده و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را در چرخه کالوین در طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد و بازسازی ریبولوز بیس فسفات را تحت تأثیر قرار می‌دهد که نتیجه آن کاهش فتوسنتز است و در نهایت رشد و عملکرد محصول کاهش می‌یابد (مارتین و همکاران، ۲۰۰۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی صفات مورفولوژی و رشد

منابع تغییر (S.O.V)	درجه آزادی (d.f)	میانگین مربعات (M.S)							
		طول ساقه	طول گل آذین	تعداد شاخه جانبی	سطح برگ	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر کل	وزن خشک کل
سطوح آبیاری (I)	۲	۲۶۴۶/۸۳ **	۱۸۴۰/۶**	۴۶۹/۴۳**	۳۴/۸۸۳**	۲۶/۶۲۹**	۲۱/۳۲۷**	۴۹۷/۷۱**	۵۰/۸۴**
کیتوزان (C)	۳	۴۶/۰۲ n.s	۴/۰۱*	۴/۶۳*	۰/۱۵۷**	۰/۰۳۳**	۰/۰۲۱**	۴/۵۲۷**	۰/۱۴۹**
I×C	۶	۲۴/۴۵ n.s	۲۵/۰۶ **	۴/۸۲**	۰/۱۴۴**	۰/۰۷۶**	۰/۰۲۹**	۰/۳۴۹**	۰/۰۴۴**
خطا	–	۲۳/۳۸	۱/۳۱	۱/۴۴	۰/۰۱۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۱۲
کل	۳۵	–	–	–	–	–	–	–	–
ضریب تغییرات (CV%)		۱۴/۰۵	۱۲/۳۱	۹/۶۳	۲/۵۷	۳/۳۱	۲/۳۲	۰/۷۱	۵/۹۵

n.s: عدم اختلاف معنی‌دار، *: اختلاف معنی دار در سطح یک درصد (p<۰/۰۵)، **: اختلاف معنی دار در سطح یک درصد (p<۰/۰۱)

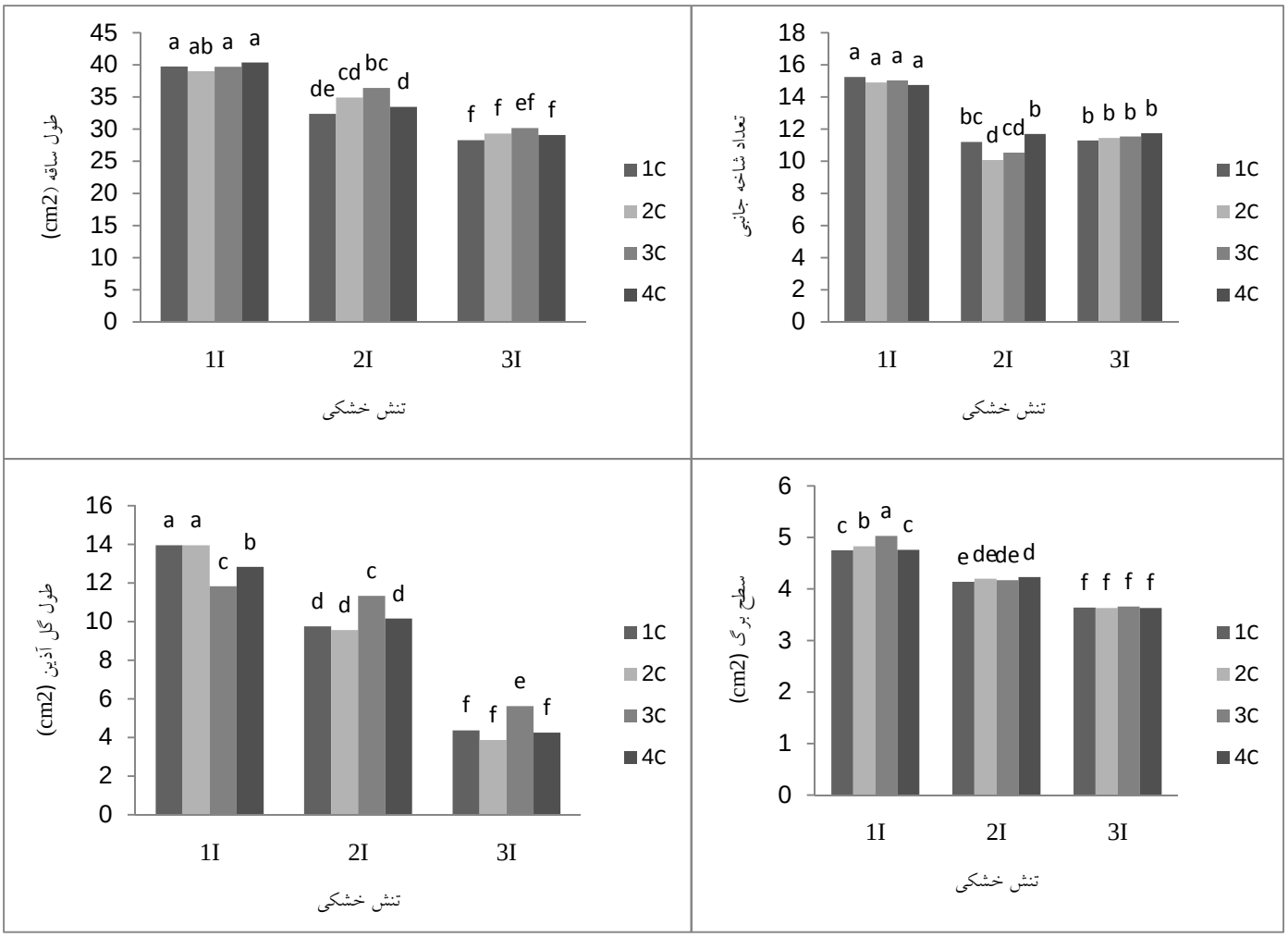
نتایج نشان داد که محلول پاشی کیتوزان باعث افزایش معنی‌دار برخی صفات مورفولوژیکی از جمله سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و همچنین وزن تر و خشک کل گردید، در حالی که اثر آن بر طول ساقه معنی‌دار نبوده است. کاربرد کیتوزان تأثیر چشم گیری بر ارتفاع گیاه نداشت و فقط در غلظت ۰/٤ گرم باعث افزایش نامحسوس میزان ارتفاع گردید و در غلظت ۰/۲ تأثیر معنی داری نشان نداد. ثابت شده است که غلظت‌های مختلف کیتوزان در بعضی گیاهان مثل برنج (بونلرتنیرون و همکاران، ۲۰۰۵)، ذرت (لی و همکاران، ۱۹۹۹) باعث افزایش رشد می‌شود و در بعضی هیچ تأثیری ندارد. اثرات مثبت کیتوزان در رشد ریشه، ساقه و برگ‌های گیاهان از جمله ژربرا (وانیچپونپان و همکاران، ۲۰۰۱) و چندین گیاه زراعی دیگر (چیبو و شیبایاما، ۲۰۰۳) طی تحقیقات مشخص شده است. همچنین مشخص شده است که کیتوزان باعث افزایش۲۰٪ عملکرد گوجه فرنگی می‌شود، ولی برای برخی گیاهان از جمله هویج، فلفل و چغندر اختلاف معنی داری مشاهده نشد (والکر و همکاران، ۲۰۰٤). 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 بیوسنتز اکسین می‌شود، تنظیم کند (یوتاراتانکیج و همکاران، ۲۰۰۷).

همچنین در شکل ۱ نشان داده شده است که تیمار کیتوزان در غلظت ۰/۲ در برخی تیمارهای خشکی سبب کاهش معنی‌دار تعداد شاخه‌های جانبی گردید. بنابراین کاهش تعداد و طول شاخه جانبی در شرایط تنش آبی به عنوان یک مکانیسم سازگاری محسوب می‌شود که می‌تواند توسط تیمار کیتوزان در برخی غلظت‌ها تشدید شود. نتایج نشان می دهد با افزایش مصرف محرک کیتوزان، سطح برگ افزایش یافت. محرک کیتوزان محتوای کلروفیل برگ را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داده و موجب افزایش آن گردید. احتمالاً مصرف کیتوزان با تأثیر بر روی ژن های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را زیاد نموده و در نتیجه موجب افزایش سطح برگ می شود (هنگ و همکاران، ۲۰۱۲). علت افزایش سطح برگ را همچنین می توان افزایش جذب نیتروژن توسط کیتوزان، افزایش میزان اسیدهای نوکلئیک، آمیدها و آمینواسیدها و در نتیجه افزایش تکثیر سلولی بیان کرد. همچنین یکی از دلایل دیگر افزایش سطح برگ را می توان به توانایی جذب رطوبت بالایی کیتوزان نسبت داد. مصرف کیتوزان در گیاه لوبیا (شیخا و ال-مالکی، ۲۰۱۱) و توت فرنگی (عبدل-ماوگود و همکاران، ۲۰۱۰) نیز باعث افزایش سطح برگ گردید. در گیاه سویا (چیبو و شیبایاما، ۲۰۰۳) و گندم (تم و همکاران، ۲۰۰۱) نیز مصرف کیتوزان، سطح برگ را افزایش می دهد. به نظر می رسد که کیتوزان با افزایش سطح برگ و تا حدودی ارتفاع گیاه در شرایط تنش توانسته نقش مؤثری در کاهش خسارت تنش بر رشد ایفا کند.

به طور کلی کاهش وزن تر و خشک گیاه و همچنین رشد و نمو در شرایط تنش خشکی، با به کار بردن غلظت‌های مختلف کیتوزان، تا حدودی جبران می‌شود. اثر کیتوزان در افزایش رشد و عملکرد گیاه را می‌توان به تولید هورمون‌های گیاهی نسبت داد. احتمال می‌رود کیتوزان تولید هورمون‌هایی مثل جیبرلیک اسید را در گیاه تحریک می‌کند. برخی از محققین (گورنیک و همکاران، ۲۰۰۸، چیبو و شیبایاما، ۲۰۰۳، خان و همکاران، ۲۰۰۲) هم گزارش کردند که استفاده از کیتوزان به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی متابولیسم نیتروژن از جمله نیترات ردوکتاز، گلوتامین سنتتاز و پروتئاز و همچنین کمک به بهبود حمل و نقل نیتروژن باعث افزایش رشد و نمو گیاه می‌شود. کیتوزان همچنین ممکن است رشد و نمو گیاه را توسط برخی مسیرهای سیگنالینگ مربوط به بیوسنتز اکسین، از طریق مسیر وابسته به تریپتوفان، افزایش دهد (یوتاراتاناکیج و همکاران، ۲۰۰۷). بنا به یافته های والکر و همکاران (۲۰۰٤) محلول‌پاشی گیاه کاهو با کیتوزان ۳ و ۱۲ هفته بعد از کاشت منجر به افزایش وزن خشک ساقه و ریشه نسبت به شاهد شد. همچنین کاربرد غلظت های مختلف کیتوزان در گیاه لوبیا منجر به افزایش وزن خشک ساقه و ریشه گردید (شیخا و اال-مالکی، ۲۰۱۱). نتایج هیدالگو و همکاران (۱۹۹٦) نشان داد که تیمار بذرهای گوجه فرنگی با کیتوزان وزن خشک و قطر ساقه را در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش می‌دهد. علت افزایش عملکرد بیولوژیک با مصرف کیتوزان در این آزمایش می‌تواند به علت اثر این تیمار بر سطح برگ باشد. در واقع افزایش سطح برگ باعث افزایش جذب نور توسط گیاه، افزایش تثبیت CO_2 و در نهایت افزایش ماده خشک می‌گردد. هم‌چنین یوتاراتاناکیج و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که کیتوزان باعث افزایش بازدهی محصول می‌شود. به نظر می‌رسد که کیتوزان با افزایش سطح برگ و تا حدودی ارتفاع گیاه در شرایط تنش می تواند، نقش مؤثری در کاهش خسارت تنش بر رشد ایفا کند.البته باید درنظر داشت، غلظت‌های مختلف کیتوزان و درجه استیلاسیون کیتوزان اثرات متغیری بر روی گیاه خواهند داشت.

به طور کلی، تنش خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی می باشد که باعث کاهش رشد گیاهان و در نتیجه کاهش عملکرد آنها می شود. کیتوزان نیز به عنوان یک محرک زیستی با عملکرد ضدتعرقی خود می‌تواند به بسته شدن روزنه و کاهش هدر رفتن آب از سطح برگ

کمک کند که این عمل کیتوزان را می‌توان به دخالت آن در مسیرهای ABA نسبت داد (ویلمر و پریکر، ۱۹۹۶). علاوه بر این، اثر متقابل خشکی و کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر بسیاری از صفات مورد بررسی داشت (جدول۲).



اکثر مطالعات، افزایش سنتز این ترکیب‌ها در اثر تنش‌های محیطی گزارش شده است. افزایش مقدار این ترکیبات احتمالاً به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آنها در برابر ROSها می‌باشد. همان‌طور که می‌دانیم هنگامی که گیاه در معرض تنش قرار می‌گیرد، مقدار زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن مانند آنیون سوپراکسید و رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن تولید می‌شود، چرا که در شرایط تنش کمبود آب روزنه‌ها در گیاه بسته می‌شوند و متعاقب آن غلظت CO_2 در بافت مزوفیل کاهش می‌یابد و به دنبال این وضعیت واکنش‌های تاریکی فتوسنتز مختل شده و محصولات حاصل از واکنش‌های روشنایی، که شامل ATP، NADPH است، مصرف نمی‌شود. در چنین شرایطی به علت عدم اکسید شدن مولکول NADPH مصرف $NADP^+$ جهت دریافت الکترون کاهش می‌یابد، بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل می کند و منجر به شکل گیری رادیکال سوپراکسید (O^{2-})، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) می‌گردد (بن‌احمد و همکاران، ۲۰۰۹). بسیاری از این ترکیبات فنلی از پالاینده‌های بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل هستند (گاأ و همکاران، ۲۰۰۰) زیرا به عنوان گروه‌های قوی الکترون دهنده و پروتون دهنده عمل می‌کنند (سیوم و همکاران، ۲۰۰٦). فلاونوئیدها با شناسایی تعداد و موقعیت گروه‌های OH، کار پاکسازی رادیکالی را انجام می‌دهند (هیم و همکاران، ۲۰۰۲). در کل بسیاری از محققان ثابت کردند که تولید فنل در بافت های گیاهی تحت تأثیر تنش خشکی افزایش می یابد (رابل و همکاران، ۲۰۰۵، ویدنر و همکاران، ۲۰۰۹).

نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش مقدار پرولین می‌گردد (شکل۲). افزایش پرولین در هنگام تنش نشان دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم فشار اسمزی می‌باشد (اشرف و فولاد، ۲۰۰۷). تنظیم اسمزی یکی از مهمترین مکانیسم‌های سازگاری گیاهان به شرایط کم آبی می‌باشد که نتیجه تولید و یا تجمع محلول‌های اسمزی سازگار باشد. تجمع اسمولیت‌های سازگار با پایین آوردن پتانسیل اسمزی به سلول اجازه می دهد که آب بیشتری را از محیط جذب کند. بنابراین اثر جبران کننده سریع بر کمبود آب در گیاه را خواهد داشت (ریگر، ۱۹۹۵). در تنش‌های محیطی اسیدهای آمینه پرولین اغلب نقش اسمولیت برای گیاه داشته و در حفظ و نگهداری آب گیاه کمک می‌کنند. افزایش پرولین در این پژوهش نیز احتمالاً به همین دلیل است. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها در شرایط تنش کمک می‌کند (کاک و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین پرولین می‌تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان غیر آنزیمی در گیاهان در نظر گرفته شود که اثرات نامطلوب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد (چن و دیکمان، ۲۰۰۵). به طور کلی، پرولین اسید آمینه‌ای است که افزایش غلظت آن فراوان‌ترین و عمومی ترین پاسخی است که به محض ایجاد استرس مشاهده می‌شود (سوریان و چالرمپول، ۲۰۰۹). به عنوان مثال، بررسی تنش روی گیاه فلفل نشان داد که مقدار پرولین در گیاه افزایش یافت (کاک و همکاران، ۲۰۱۰)، همچنین بررسی روی آفتابگردان تحت شرایط خشکی نشان داد که در طول تنش با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل کیناز میزان پرولین نیز افزایش پیدا کرد (منیوانان و همکاران، ۲۰۰۷).

نتایج حاصل از آنالیز میزان قندهای محلول نیز نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش مقدار قندهای محلول می‌گردد (شکل۲). قندهای محلول از دیگر اسمولیت‌های مهمی هستند که افزایش آن در پاسخ به تنش خشکی گزارش شده است. البته نتایج ضد و نقیضی در مورد اثر تنش خشکی و شوری بر تجمع قند در گیاهان وجود دارد. برخی محققان (هانسون و هیتز، ۱۹۸۲) گزارش کرده‌اند که محتوای قند تحت تنش افزایش می‌یابد (جونس و تورنر، ۱۹۸۰). برخی دیگر معتقدند که محتوای قند کاهش می‌یابد و یا ثابت باقی می‌ماند (مورگان، ۱۹۹۲). در این بررسی افزایش محتوای قندهای محلول تحت تنش خشکی مشاهده شد که احتمالاً به دلیل هیدرولیز نشاسته و افزایش قندهای محلول حاصل از آن است.

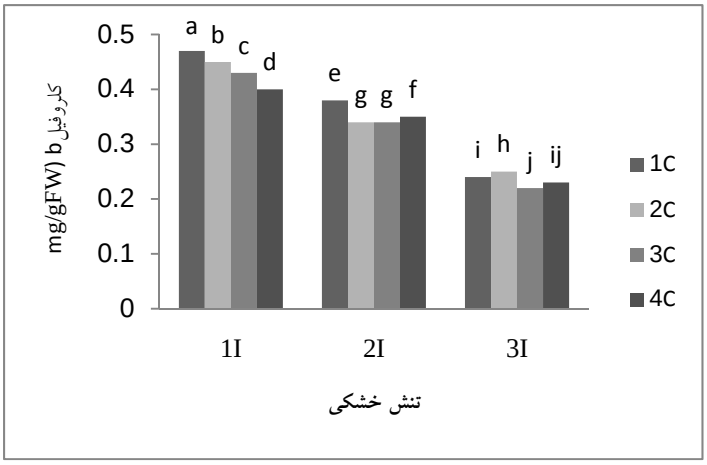
همان طور که در شکل۲ مشخص شده است استفاده از کیتوزان در مجموع باعث کاهش میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل شده است، هر چند در بعضی موارد افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان کلروفیل صورت گرفته است، که این نتایج ما بر خلاف نتایج حاصل از مطالعات خان و همکاران (۲۰۰۲) و ال-تنتوی (۲۰۰۹) می‌باشد که با به کار بردن کیتوزان افزایش قابل ملاحظه ای را در میزان کلروفیل مشاهده کردند. با توجه به وجود عنصر نیتروژن در محرک کیتوزان و نقش ساختاری این عنصر در حلقه های تتراپیرولی کلروفیل، چنین افزایشی توجیه پذیر می باشد. از طرف دیگر، احتمالاً مصرف کیتوزان با تأثیر بر روی ژن های مسئول سازنده کلروفیل، تولید کلروفیل را زیاد نموده است. دزنگ و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند کاربرد کیتوزان محتوی کلروفیل a و b را در برگ های قهوه افزایش داد.

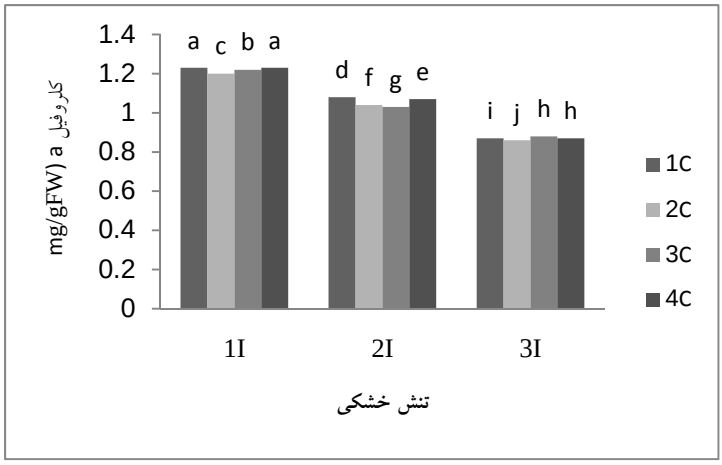
نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که کیتوزان باعث افزایش معنی دار (p<۰/۰۱) میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در شرایط تنش و غیرتنش گردید. می‌توان گفت که محرک هایی مثل کیتوزان ممکن است

ژن‌های جدیدی را فعال کنند که آنزیم‌ها و در نهایت مسیرهای بیوسنتزی مختلفی را راه‌اندازی کنند و باعث تشکیل متابولیت‌های ثانویه شوند. گزارش شده است که کاربرد کیتوزان محتوی فلاونوئیدها در گیاهان گوجه فرنگی را افزایش داده است (کاکرو و همکاران، ۲۰۱۱). هنگ و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی تأثیر کیتوزان بر محتوای پلی‌فنلی گیاه پونه گزارش کردند محتوای ۱۲ پلی فنول (٤ فنولیک اسید، و ۸ فلاونوئید) با مصرف کیتوزان افزایش پیدا کرد. به نظر می‌رسد افزایش در پلی فنول‌ها به علت تحریک آنزیم‌های بیوسنتزی از قبیل فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و چالکون سنتتاز پلی فنول باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد کیتوزان باعث افزایش معنی دار (p<۰/۰۱) میزان پرولین در شرایط تنش و غیرتنش گردید و از طریق افزایش پرولین به تنظیم اسمزی بیشتر در گیاه کمک می‌کند. به عبارتی کیتوزان از یک طرف به عنوان ضدتعرق عمل می‌کند و مانع از هدر رفت آب از سطح برگ می‌شود و از طرف دیگر می‌تواند به عنوان جاذب الرطوبه در شرایط تنش عمل کند و با مواد مداخله گری که ممکن است در خود داشته باشد، مقدار پرولین را افزایش دهد. افزایش میزان پرولین گیاه باعث جذب هر چه بیشتری آب از سطح خاک می شود. افزایش محتوی پرولین در برگ‌های خیار (زو و همکاران، ۲۰۰٤) و گیاهچه‌های ذرت (گان و همکاران، ۲۰۰۹) تیمار شده با کیتوزان نیز گزارش شده است.

تیمار کیتوزان همچنین اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) بر مقدار قندهای محلول در گیاهان شاهد و تحت تنش داشت و باعث افزایش میزان آنها شد. محققان دریافتند که محلول‌پاشی گیاه برنج با کیتوزان در شرایط تنش سبب افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌شود (بونلرتنیرون و همکاران، ۲۰۰۵)، که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. به نظر می‌رسد که کیتوزان نقش غیرمستقیمی در بیوسنتز و تجزیه قندها در شرایط تنش داشته باشد. بنابراین کیتوزان ممکن است با افزایش کربوهیدرات های محلول در گیاهان تنش دیده و در نتیجه تنظیم اسمزی و حفظ پتانسیل آب سلول، در کاهش اثرات زیانبار تنش کم آبی روی گیاهان مؤثر واقع شود. علاوه بر این، اثر متقابل خشکی و کیتوزان تأثیر معنی‌داری بر بسیاری از صفات مورد بررسی داشت.





Boonlertnirun, S., E. Sarobol and D. Sooksathan. 2005. Studies on chitosan concentration and frequency of foliar application on rice yield potential c.v Suphunburi 1. 31st Congress on Science and Technology of Thailand October18-20, Suranaree University of Technology, Thailand, pp 40-44.

Buchanan-Wollaston, V., S. Earl, E. Harrison, E. Mathas, S. Navabpour, T. Page and D. Pink. 2003. The molecular analysis of leaf senescence – a genomics approach. Plant Biotech. J. 1:3-22.

Cabuslay, G. S., O. Ito and A. A. Alejal. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit, Plant. Sci. 63:815–827.

Chang, W.C., S.C. Kim, S.S. Hwang, B.K. Choi and S.K. Kim. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant. Sci. 163:1161-1168.

Chen, C. and M. B. Dickman. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America 102:3459-3464.

Chibu, H. and H. Shibayama. 2003. Effects of chitosan application on the growth of several crops. In:Chitin and chitosan in life science. T. Uragami, K Kurita and T. Fukamizo (eds.). Yamaguchi, Japan. pp. 235-239.

Coqueiro, D.S.O., M. Maraschin and R.M.D. Piero. 2011. Chitosan Reduces Bacterial Spot Severity and Acts in Phenylpropanoid Metabolism in Tomato Plants. J. Phytopathol. 159(7):488-494.

Dzung, N.A., V.T. Phuong and T.T. Dzung. 2011. Research on impact of chitosan oligomers on biophysical characteristics, growth, development and drought resistance of coffee. Carbohydrate Polymer. 84:751-755.

El-Tantawy, E.M. 2009. Behaviour of tomato plants as affected by spraying with chitosan and aminofort as natural stimulator substances under application of soil organic amendments. Pakistan J. Biol. Sci. 12:1164-1173.

Gao, X., M. Ohlander, N. Jeppsson, L. Bjork and V. Trajkovski. 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruit of sea buckthourn (*Hippophae rhamnoides*.L) during maturation. J. Agric. Food Chem. 48:1458-1490.

Goorge, A. and F. Roberts. 1992. "Chitin Chemistry" In Senior Lecture in Dyeing Nottingham Polytechnic; The Macmilan press LTD. London. 349p.

Gornik, K., M. Grzesik, B.R. Duda. 2008. The effect of chitosan on rooting of gravevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperature stress. J Fruit Ornamental Plant Res. 16:333-343.

Guan, Y.J., J. Hu, X.J. Wang and C.X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. J Zhejiang Uni. Sci. B. 10:427-433.

Guerfel M., G. Mourot, J. Ragot, M. Benrejeb and K. Benothman. 2008. Comparaison des indices de detection de changements des modes de fonctionnement par ACP. Cas des indices bases sur l'estimation d'etat. 1st International Workshop on Systems Engineering Design & Applications, SENDA'08, Monastir, Tunisia 24-26 October.

Hanson, A.D. and W.D. Hitz. 1982. Metabolic responses of plant water deficit. Annu. Rev. Plant. Physiol. 23:163-203.

Heim, K.E., A.R. Tagliaferro and D.J. Bobilya. 2002. Flavonoid antioxidants:chemistry, metabolism and structure-activity relationships. J. Nutr. Biochem. 13(10):572-584.

Heng, Y., C.F. Xavier, P.C. Lars and G. Kai. 2012. Chitosan Oligosaccharides Promote the Content of Polyphenols in Greek Oregano *(Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). J. Agric. Food Chem. 60:136-143.

Hidalgo, L., W. Argelles, C. Peniche, M. Pino and E. Terry. 1996. Effect of chitosan in seed treatment of tomato. Revista de Protection Vegeta, 11(1):37-39.

Hong-Bo, S., C. Li-Ye, A.J. Cheruth and Z. Chang-Xing. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants, Curr. Biol. 331:215–225.

Jones, M.M. and N.C. Turner. 1980. Osmotic adjustment in expanding and fully expanded leaves of sunflower in response to water deficits. Aust. J. Plant. Physiol. 7:181-192.

Khan, W.M., B. Prithiviraj and D.L. Smiyh. 2002. Effect of foliar application of chitin oligosaccharides on photosynthesis of maize and soybean. Photosynthetica, 40:621-624.

Kiani, S.P., P. Maury, A. Sarrafi and P. Grieu. 2008. QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under wel-watered and water-stressed conditions. Plant Sci. 175:565-573.

Koc, E., C. Islek and A.S. Ustun. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi Uni. J. Sci. 23:1-6.

Kukavica, B. and Jovanovic, S. V. 2004. Senescence-related changes in the antioxidant status of ginkgo and birch leaves during autumn yellowing physiologia Plantarum. 122 (3):321-327.

Labra, M., M. Miele, B. Ledda, F. Grassi, M. Mazzei and F. Sala. 2004. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotping of *Ocimum basilicum* L. cultivars, Plant Sci. 167:725-731.

Lee, Y.S., C.S. Kang and Y.S. Lee. 1999. Effects of chitosan on production and rot control of soybean sprouts. Crop Sci. 44:368-372.

Levitt, J. 1980. Responces of plants to environmental stress. Vol 2nd. Academic press. New York.

Manivannan, P., C.A. Jaleel, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Somasundaram, G.M.A. Lakshmanan and R. Panneerselvam. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, 59(2):141-149.

Martin, R.V., D.J. Jacob, J.A. Logan, I. Bey, R.M. Yantosca, A.C. Staudt, Q.B. Li, A.M. Fiore, B.N. Duncan, H. Liu, P. Ginoux and V. Thouret. 2002. Interpretation of TOMS observations of tropical tropospheric ozone with a global model and in-situ observations, J. Geophys. Res. 107(18):43-51.

Mohsenzadeh, S., M. Malboobi, A. Razavi and K. Farrahi-Ashtiani. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (poaceae) to water stress. Environ. Exp. Bot. 56:314-322.

Morgan, J.M. 1992. Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmoregulation in wheat. Aust. J. Plant. Physiol. 19:67-76.

Nam, B.P. 2008. Effect of chitosan oligomer on growth and drought resistance of coffee seedlings in green house. Thesis of Biology. Tay Nguyen University, Dak Lak Province, Vietnam.

Ouyang, S. and X. Langlai. 2003. Effect of chitosan on nutrient quality and some agronomic characteristic of non-heading chinese cabbage. Plant Physiol. Commun. 39(1):21-24.

Petropoulos, S. A., D. Daferera, M. G. Polissiou and H. C. Passam. 2008. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. Sci. Hortic.115(4):393-397.

Pinheiro, H.A., F.M. DaMatta, A.R.M. Chaves, E.P.B. Fontes, M. E. Loureiro. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. Plant Sci. 167:1307-1314.

Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Plant Physiol.161:1189-1202.

Reddy, A.R., K.V. Chiatanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants, J. Plant Physiol. 161:189-1202.

Sajjadi, S.E. 2006. Analsis of the essential oils of two cultivated Basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran, DARU J. Pharm. Sci. 14 (3):128-130.

Salisbury, F.B. and G.W. Ross. 1992. Plant Physiology.4th ed. Wadsworth Pub.Co, Belmont, California.

Seyoum, A., K. Asres and F.K. El-Fiky. 2006. Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. Phytochem. 67(18):2058-2070.

Sheikha S.A. and F.M. Al-Malki. 2011. Growth and chlorophyll responses of bean plants to chitosan applications. Eur. J. Sci. Res. 50(1):124-134.

Sheligl, H. Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta. 47-51.

Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enolo. Viticul. 16:144-153.

Smirnoff, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytol. 125:27-58.

Suriyan, Ch. and K. Chalermpol. 2009. Proline accumulation, photosynthetic abilities and growth characters of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) plantlets in response to iso-osmotic salt and water deficit stress. Agr. Sci. China. 8:51-58.

Tham, L.X., N. Nagasawa, S. Matsuhashi, N.S. Ishioka, T. Ito, and T. Kume. 2001. Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium. Radiat. Phys Chem. 61:171-175.

Uthairatanakij A, J.A. Teixeira da Silva, K. Obsuwan. 2007. Chitosan for improving orchid production and quality. Orchid Sci. Biotech. 1:1-5.

Uthairatanakij, A., A. Jaime, K. Obsuwan. 2007. Chitosan for Improving Orchid Production and Quality, Orchid Sci. Biotech. 1(1):1-5.

Walker, R., S. Morris, P. Brown and A. Gracie. 2004. Evaluation of potential for chitosan to enhance plant defense. Publication No. 04. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia, pp:55.

Wanichpongpan, P., K. Suriyachan and S. Chandrkrachang. 2001. Effects of chitosan on the growth of Gerbera flower plant (*Gerbera jamesonii*):In T. Uragami, K. Kurita, T. Fukamizo (Eds.), Chitin and Chitosan in Life Science, Yamaguchi, pp:198-201.

Weidner, S., M. Karolak, M. Karamac, A. Kosinska and R. Amarowicz. 2009. Phenolic compounds and properties of antioxidants in grapevine roots (*Vitis vinifera*) under drought stress followed by regeneration. Acta Soc. Bot. Pol. 78:97-103.

Willmer, C.M. and M. Pricker. 1996. Stomata (2nd Edn), Chapman and Hall, London, 375 pp.

Wrobel, M., M. Karmac, R. Amarowicz, E. Fraczek, S. Weidner. 2005. Metabolism of phenolic compounds in *Vitis riparia* seeds during stratification and during germination under optimal and low temperature stress conditions. Acta Physiol. Plant, 27(3A):313-320.

Xue, G.X., H.Y. Gao, P.M. Li, and Q. Zou. 2004. Effects of chitosan treatment on physiological and biochemical characteristics in cucumber seedlings under low temperature. J. Plant Physio. Mol. Biol. 30: 441-448.

Effect of bioelicitor of chitosan on physiological and morphological properties in purpule basil (*Ocimum basilicum* L.) under water deficit

F. Malekpoor[1,3], A. Salimi[2], A. Ghasemi Pirbalouti[3]

Received: 2015-05-23 Accepted: 2015-11-12

Abstract

Medicinal plants have different reactions to drought stress in yield and production. *Ocimum basilicum* L. as a medicinal plants, used in treatment of many diseases. Chitosan, a major component of cell wall of fungal species, causes physiological and morphological changes in the plant. This study aimed to evaluate the effect of water stress (100, 60 and 30% field capacity) and elicitor chitosan (0, 0.2 and 0.4 grams per liter) on growth and development properties of basil in the Research Farm of Islamic Azad University, Shahrekord Branch in spring 2014. Experimental treatments were arranged as factorial in a complete randomized design with three replications. The morphological (plant height, inflorescence, number of branches, leaf area, fresh and dry weights) and physiological parameters (chlorophyll, carotenoids, proline, soluble carbohydrates, total phenolic and flavenoides) were studied. Analysis of variance showed that drought stress and chitosan had significant effects on some of morphology and physiology characteristics. Drought stress decreased the content of photosynthetic pigments, leaf area, plant height, fresh and dry weight of root and arial parts and increased proline, soluble carbohydrates, total phenol and flavenoides. Treatment with chitosan increased fresh and dry weight of root and arial parts, soluble carbohydrates, proline, phenol and flavonoid in stressed and non-stressed plants. In general, in order to prevent and reduce damage of water stress, the use of bio-polymer chitosan, as a natural material in basil, is important.

Key words: drought stress, chitosan, *Ocimum basilicum* L.

1-Ph.D student of plant physiology, Faculty of Biology Science, Kharazmi University, Tehran , Iran
2-Assistant Professor, Department of Plant Biology, Faculty of Biology Science, Kharazmi University, Tehran, Iran
3-Medicinal Plants Department, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran