



**عنوان مقالات**

۲۳۶..... اثر ضدعفونی کننده اشعه گاما و گاز آزون بر بار میکروبی یادرنجبویه (*Melissa officinalis*).....  
 راضیه ولی اصیل - مجید عزیزی - حسین آروزی - معصومه بحرینی - محدثه مرزبان

۲۳۵..... بررسی کاربرد بسته بندی نانو بر ماندگاری و خواص کیفی میوه هلو رقم آلبرتا.....  
 محمدرضا اصتری - محمد توحیدیان

۲۴۶..... ارزیابی اثر بیوفسفر و اسیدهیومیک بر برخی خصوصیات رشدی و میزان روغن بذر گل مغربی.....  
 زینب آفاخانی - مجید عزیزی - حسین آروزی

۲۵۷..... اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی و سرما در بهبود ویژگی های مورفولوژیک سینور.....  
 (*Pericallis × hybrida*)  
 کاظم بشیری - ابوالفضل جوکار

تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام انگور (*Vitis vinifera* L.)  
 تحت شرایط تنش خشکی.....  
 ناصر عباسپور - لادن بابائی - علیرضا فرخزاد

۲۸۱..... مقایسه عملکرد و اجزای عملکرد دوازده ژنوتیپ زیتان بنفش در دو استان اصفهان و مازندران.....  
 نایب آملی امیرموشنگ جلالی - پیمان جعفری

تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه های برخی توده های بومی کندو و پایه های  
 هیبرید وارداتی مناسب پیوند.....  
 علی فرهادی - حسین آروزی - حسین نعمتی - رضا صالحی - فرانتسکو جعفرینا

تأثیر نیروژن و حذف محلول غذایی یک هفته قبل از برداشت بر تجمع نیترات و خصوصیات رشدی اسفناج  
 (*Spinacia oleracea* L.).....  
 محمد صادق صیادقی - سیدجلال طباطبائی - حسن نبات

۳۱۵..... بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.).....  
 مهدی آران - بهرام عابدی - علی تهرانی فر - مهدی پارسا

۳۲۷..... تاثیر لیگنوسولفونات پریشه زایی درون شیشه ای گردو.....  
 مریم افلاکی جلالی - عبدالله حاتم زاده - حسن بهرامی سیرمندی

۳۳۸..... بررسی الگویم آبیاری و کم آبیاری موضعی ریشه بر عملکرد کمی و کیفی و کارآیی مصرف آب الار.....  
 محمد سعید تدین - غلامرضا معانی پوریان

۳۵۴..... بهینه سازی اندام زایی گیو مستقیم گیاه آنتوریوم (*Anthurium scherzerianum*).....  
 احمد توزوزی - عبدالرضا باقری - نسرین مشتاقی - احمد شریفی

اثر تنش آبی بر روند تغییرات پرولین، قندهای محلول، محتوای نسبی آب و پروتئین های محلول برگه دو  
 نمونه گل جعفری.....  
 سیدموسی موسوی - مهرانگیز جهراری - سمیع حاشی

۳۷۶..... بررسی اثرات ژنوتیپ، نوع سینونیمین و اکسین بر تکثیر درون نیشه ای ریزنمونه های کاپینول  
 گیاه ژربوا (*Gerbera jamesonii*).....  
 احمد شریفی - سیده مهدیه خرازی - فاطمه کیخا - آغر - عبدالرضا باقری - الهه نیری - مریم مرادیان

ادامه فهرست داخل جلد

نشریه علمی - پژوهشی علوم باغبانی جلد ۳۱ شماره ۲ سال ۱۳۹۶ 2017 Vol. 31 No. 2 Journal of Horticultural Science

**Contents**

The Disinfectants effect of Gamma Radiation and Ozone Gas on Microbial Load of Meliss (*Melissa officinalis*).....234  
 R. Valiasil- M. Azizi- H.Aroiee- M. Bahraini- M. Morabaian

Effect of Nano Packaging on Storage Life and Quality Attributes of Elberta Peach..... 245  
 M.R. Asghari - M. Tohidian

Evaluation of Bio-phosphor and HumicAcid on Growth Parameters and Oil Content in Evening Primrose (*Oenotherabiennis* L.)..... 256  
 Z. Aghakhani- M. Azizi-H.Aroiee

Effect of Plant Growth Regulators and Cold on Improvement of Morphological Characteristics of Cineraria (*Pericallis × hybrida*)..... 268  
 K. Bashiri - A. Jowkar

The Effect of Salicylic Acid Application on Some Morphological and Physiological Characteristics of Grape Cultivars (*Vitisvinifera* L.) Under Drought Stress Conditions..... 280  
 N. Abbaspour - L. Babaci - A.R. Farrokhzad

Comparison ofYield of TwelveBasilCultivarsinTwo Provinces:Isfahan and Mazandaran..... 291  
 N. Arnoli - A. Hooshang Jalali- P. Jafari

Effects of Salinity Stress on Morphological and Physiological Characteristics of some Local Landrace and Inter specific Hybrids of Cucurbits Seedlings as Rootstocks.....305  
 A.Farhadi - H. Aroiee- H.Nemati - R. Salehi - F.Giullfrida

Effects of Nitrogen and Nutrient Removal on Nitrate Accumulation and Growth Characteristics of Spinach (*Spinacia oleracea* L.).....314  
 M. S. Sadeghi - S. J. Tabatabai- H. Bayat

Effects of Drought Stress on some Morphological andPhysiological Properties of Three Grapevine Cultivars (*Vitisvinifera* L.).....326  
 M. Aran - B. Abedi- A. Tehranifar- M. Parsa

The Effect of Lignosulfonatcon Rooting of Micropropagated Walnut.....337  
 M. Afaki Jalali - A. Hatanzadeh- H. Bahrami Sirmandi

Survey the Effects of Partial Root Zone Deficit Irrigation and Deficit Irrigation on Quantitative, Qualitative and Water Use Efficiency of Pomegranate .....353  
 M. S.Tadayon - G.Moafpourian

Optimization of Indirect Regeneration in *Anthuriumscherzerianum*.....364  
 A. Noroozi - A. Bagheri- N. Moshtaghi- A. Sharifi

Effect Of Water Stresson Trend Changesof Leaf Proline, Total Soluble Sugars, Relative Water Content and Soluble Protein of Two Species of Pot Marigold.....375  
 S. M. Mousavi - M. Chchrazi- S. Khaleghi

Effect of different Genotypes, Cytokinins and Auxins on *In vitro* Capitulum Regeneration of Gerbera (*Gerbera jamesonii*)..... 388  
 A. Sharifi - M. Kharrazi- F. Keykha- A. R. Bagheri- L. Samari- Maryam Moradian

Evolution of Morphological and Physiological Response of *Agropyron* spp. toDrought Stress..... 400  
 M. Yaghoobi -M. Parsa - A. Gazanchian- H.R. khazace

Continue Content in cover



# نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

26524  
از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری  
73/10/19

21/2015  
با شماره پروانه 68/4/11  
درجه علمی - پژوهشی شماره

تابلستان 1396 شماره 2 جلد 31

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد  
مدیر مسئول: رضا ولی زاده  
سردبیر: غلامحسین داوری نژاد

اعضای هیات تحریریه:  
تهرانی فر، علی  
داوری نژاد، غلامحسین  
طلایی، علیرضا  
عزیزی، مجید  
عبادی، علی  
فارسی، محمد  
کافی، محسن  
لاهوئی، مهرداد  
مبلی، مصطفی

استاد - علوم باغبانی (دانشگاه فردوسی مشهد)  
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه فردوسی مشهد)  
استاد - میوه کاری (دانشگاه تهران)  
استاد - گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)  
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)  
استاد - ژنتیک و اصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)  
استاد - گلکاری و مهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)  
استاد - زیست شناسی (دانشگاه فردوسی مشهد)  
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)

چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

ناشر: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

نشانی: مشهد - کد پستی 91775 صندوق پستی 1163 دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی -  
نشریه علوم باغبانی نامبر: 8787430

این نشریه در پایگاههای زیر نمایه شده است:

پایگاه استنادی علوم ایران (ISC) پایگاه اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) بانک اطلاعات نشریات کشور (MAGIRAN)

پست الکترونیکی: Jhorts4@um.ac.ir

مقالات این شماره در سایت <http://jm.um.ac.ir> به صورت مقاله کامل نمایه شده است.

این نشریه به تعداد 4 شماره در سال چاپ و منتشر می شود.

# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## مندرجات

- ۲۲۶ اثر ضد عفونی کننده اشعه گاما و گاز ازون بر بار میکروبی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)  
راضیه ولی اصلیل - مجید عزیزی - حسین آروئی - معصومه بحرینی - محدثه مربایان
- ۲۳۵ بررسی کاربرد بسته بندی نانو بر ماندگاری و خواص کیفی میوه هلو رقم آلبرتا  
محمد رضا اصغری - محمد توحیدیان
- ۲۴۶ ارزیابی اثر بیوفسفر و اسید هیومیک بر برخی خصوصیات رشدی و میزان روغن بذر گل مغربی  
زینب آقاخانی - مجید عزیزی - حسین آروئی
- ۲۵۷ اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی و سرما در بهبود ویژگی های مورفولوژیک سینر  
(*Pericallis × hybrida*)  
کاظم بشیری - ابوالفضل جوکار
- ۲۶۹ تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک ارقام انگور (*Vitis vinifera* L.) تحت شرایط تنش خشکی  
ناصر عباسپور - لارین بابائی - علیرضا فرخزاد
- ۲۸۱ مقایسه عملکرد و اجزای عملکرد دوازده ژنوتیپ ریحان بنفش در دو استان اصفهان و مازندران  
ناهید آملی - امیر هوشنگ جلالی - پیمان جعفری
- ۲۹۲ تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه های برخی توده های بومی کدو و پایه های هیبرید وارداتی مناسب پیوند  
علی فرهادی - حسین آروئی - حسین نعمتی - رضا صالحی - فرانچسکو جو فریدا
- ۳۰۶ تأثیر نیتروژن و حذف محلول غذایی یک هفته قبل از برداشت بر تجمع نیترات و خصوصیات رشدی اسفناج  
(*Spinacia oleraceae* L.)  
محمد صادق صادقی - سید جلال طباطبایی - حسن بیات
- ۳۱۵ بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی های مورفولوژیک و فیزیولوژیک سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.)  
مهدی آران - بهرام عابدی - علی تهرانی فر - مهدی پارسا
- ۳۲۷ تاثیر لیگنوسولفونات بر ریشه زایی درون شیشه ای گردو  
مریم افلاکی جلالی - عبدالله حاتم زاده - حسن بهرامی سیرمندی
- ۳۳۸ بررسی اثر کم آبیاری و کم آبیاری موضعی ریشه بر عملکرد کمی و کیفی و کارآیی مصرف آب انار  
محمد سعید تدین - غلامرضا معاف پوریان
- ۳۵۴ بهینه سازی اندام زایی غیر مستقیم گیاه آنتوریوم (*Anthurium scherzerianum*)  
احمد نوروزی - عبدالرضا باقری - نسرين مشتاقی - احمد شریفی
- ۳۶۵ اثر تنش آبی بر روند تغییرات پرولین، فندهای محلول، محتوای نسبی آب و پروتئین های محلول برگ دو گونه گل جعفری  
سید موسی موسوی - مهرانگیز چهارزی - اسمعیل خالقی
- ۳۷۶ بررسی اثرات ژنوتیپ، نوع سیتوکینین و اکسین بر تکثیر درون شیشه ای ریزنمونه های کاپیتول گیاه ژبرا (*Gerbera jamesonii*)  
احمد شریفی - سیده مهدیه خرازی - فاطمه کیخا آخر - عبدالرضا باقری - الهه ثمری - مریم مرادیان

- ۳۸۹ بررسی چگونگی پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی چمن بومی جنس آگروپیرون به تنش رطوبتی  
مهدی یعقوبی - مهدی پارسا - علی گرانجیان - حمیدرضا خزاعی
- ۴۰۱ بررسی امکان انتقال cdNA ژن منگنز پراکسیداز (*mnp*) از قارچ صدفی به قارچ دکمه‌ای سفید با کمک آگروباکتریوم  
مژگان پروندی - محمد فارسی - محسن اشرفی
- ۴۱۲ بررسی تمایز یابی جوانه‌ها در کیوی رقم‌های هایوارد و توموری  
ابراهیم عابدی قشلاقی - ولی ربیعی - مالک قاسمی - جواد فتاحی مقدم - فرهنگ رضوی





## اثر ضد عفونی کننده اشعه گاما و گاز ازون بر بار میکروبی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)

راضیه ولی اصیل<sup>۱\*</sup> - مجید عزیزی<sup>۲</sup> - حسین آروئی<sup>۳</sup> - معصومه بحرینی<sup>۴</sup> - محدثه مربایان<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۰

### چکیده

امروزه گیاهان دارویی با روش‌های مختلف ضد عفونی می‌شوند که هر کدام از این روش‌ها تأثیرات متفاوتی بر بار میکروبی آنها می‌گذارد. بنابراین استفاده از روش‌هایی که تأثیر زیادی در سالم‌سازی و کمترین تأثیر را روی مواد موثره این گیاهان داشته باشد ضروری است از این رو هدف از این تحقیق که بصورت طرح کامل تصادفی و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام پذیرفت بررسی تأثیر پرتوتابی با اشعه گاما و گاز ازون بر بار میکروبی گیاه دارویی بادرنجبویه می‌باشد. به این صورت که برگ‌های خشک شده بادرنجبویه در برابر دوزهای ۳، ۷، ۱۰ و ۱۵ کیلوگری اشعه گاما و غلظت‌های ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی گرم در لیتر گاز ازون در مدت زمان‌های ۱۰ و ۳۰ دقیقه قرار گرفتند سپس بار میکروبی آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که هر دو روش بار میکروبی بادرنجبویه را کاهش دادند. اما ازون دهی تأثیر بیشتری در کاهش بار میکروبی این گیاه داشت بیشترین تأثیر اشعه گاما بر بار میکروبی مربوط به دوز ۱۵ کیلوگری بود. و غلظت ۰/۹ میلی گرم در لیتر گاز ازون و زمان ۳۰ دقیقه بیشترین تأثیر را در کاهش بار میکروبی داشت. بطور کلی نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که استفاده از گاز ازون به منظور ضد عفونی بادرنجبویه روش ضد عفونی مناسبی می‌باشد. با توجه به این که استفاده از ازون هزینه کمتری نسبت به اشعه گاما نیاز دارد. اما باید تحقیقات بیشتری در مورد زمان قرار گیری نمونه‌های گیاهی در برابر گاز ازون و تأثیر آن روی مواد موثره گیاهان دارویی انجام شود.

واژه‌های کلیدی: شمارش کلی میکروب‌ها، کولیفرم، کپک و مخمر، ضد عفونی

### مقدمه

شده است. گزارشاتی در خصوص استفاده از تیمار پرتو دهی برای ضد عفونی گیاهان دارویی وجود دارد. حداکثر دوز اشعه گاما (Cobalt-60 یا cesium-137) برای ضد عفونی گیاهان دارویی ۱۰ کیلوگری مشخص شده است و دوز ۵-۱۰ کیلوگری تیمار موثری برای ضد عفونی گیاهان ادویه ایی گزارش شده است (۲۳). داد خواه و همکاران (۲) اثر پرتو گاما را بر بار میکروبی و اسانس زیره سیاه<sup>۶</sup> مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که پرتو دهی علاوه بر کاهش بار میکروبی تنها سبب تغییر آشکار در ۳ ترکیب از ۲۲ ترکیب شناسایی شده در اسانس این گیاه می‌گردد. افزایش فلاوونوئید کل عصاره آبی زیره سیاه در دوزهای ۱۰ و ۲۵ کیلوگری مشاهده شده بود. صالحی صورمقی و همکاران (۳) با بررسی تغییرات ترکیبات اسانس گیاهان دارویی و خوراکی نعناع<sup>۷</sup> کمی، نعناع<sup>۸</sup> فلفلی، گشنیز<sup>۹</sup>، رازیانه<sup>۱۰</sup>، زنجبیل<sup>۱۱</sup>، زیره سیاه<sup>۱</sup>، زیره سبز<sup>۲</sup>، بادرنجبویه<sup>۳</sup>، آویشن باغی<sup>۴</sup> و

بطور کلی گیاهان دارویی در مراحل مختلف کاشت، داشت، برداشت، حمل و نقل، فراوری و بسته بندی بسته بندی می‌توانند به میکروب‌های مختلفی آلوده شوند که این آلودگی می‌تواند تأثیر نامطلوبی بر کیفیت این گیاهان و مصرف کننده داشته باشد (۱۶). بنابراین استفاده از یک روش ضد عفونی که علاوه بر کاهش بار میکروبی تأثیر منفی روی خصوصیات گیاهان شامل کیفیت و کمیت مواد موثره این گیاهان نداشته باشد ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پرتو تابی با اشعه گاما و ازون دهی بر بار میکروبی گیاه دارویی بادرنجبویه می‌باشد. گرچه محققان مختلفی تأثیر اشعه گاما را بر بار میکروبی و اسانس گیاهان دارویی گزارش دادند اما اطلاعات کمی در مورد تأثیر ازون بر بار میکروبی گزارش

۱، ۲، ۳ و ۵- کارشناس ارشد، دانشیار، استاد و کارشناس ارشد علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(\* - نویسنده مسئول: (Email: valiasill.razieh@mail.um.ac.ir)

۴ - استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.22040

6- *Carum carvi*

7- *Mentha spicata* L.

8 - *Mentha piperita* L.

9 - *Coriandrum sativum* L

10 - *Foeniculum vulgare* Mill

11 - *Zingiber officinalis* Rose

## مواد و روش‌ها

### تهیه مواد گیاهی

جهت تهیه نمونه‌های گیاهی بادرنجبویه، از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد جمع آوری شدند و در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد از نظر صحت گونه مورد تایید قرار گرفتند و به منظور آماده کردن گیاهان جهت اعمال تیمارهای مختلف اشعه گاما و ازون به آزمایشگاه گروه باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند.

### پرتو دهی نمونه‌های گیاهی

جهت پرتو دهی، نمونه‌های گیاهی تهیه شده بصورت بسته‌های ۱۵ گرمی با ۸ تکرار در پاکت‌های پلی اتیلن (zip bags) با اندازه ۱۰×۱۲ سانتی متر بسته بندی شد. سپس پاکت‌های حاوی نمونه‌های گیاهی به آزمایشگاه دوزیمتر پژوهشکده کاربرد پرتو ها واقع در سازمان انرژی اتمی ایران منتقل شد. پاکت‌های پلی اتیلنی در داخل دستگاه Gamma cell- 220 با چشمه کبالت  $^{60}\text{Co}$  با سرعت ۴ گرمی بر ثانیه پرتو دهی شدند.

### تولید ازون و ازون دهی نمونه‌های گیاهی بادرنجبویه

تولید گاز ازون به روش تخلیه قوس الکتریکی با ظرفیت تولید ۱۰ گرم در ساعت (شرکت ازون آب، مدل، ASI0 سری کا، ساخت ایران) تغذیه دستگاه با اکسیژن به مقدار ۳ لیتر در دقیقه انجام شد. اکسیژن مصرفی در دستگاه تولید گاز ازون بوسیله دستگاه تولید کننده اکسیژن (شرکت لانگفی، مدل، LFY-I-5A-W) انجام گرفت سپس بوسیله سنسور اندازه گیری ازون) شرکت ازون آب، ساخت ایران) مقدار ازون اندازه گیری شد. در نهایت گاز ازون تولیدی داخل محفظه مخصوصی که ظروف منفذ دار (جهت قرار دادن نمونه های گیاهی بادرنجبویه) به منظور جریان یافتن ازون در همه قسمت ها تعبیه شد هدایت شد.

### بررسی بار میکروبی

به منظور تهیه محلول اولیه از نمونه‌های گیاهی ابتدا ۱۰ گرم نمونه گیاهی وزن شده و با ۹۰ میلی لیتر آب پیتون دار رقیق شده محلول آماده شده هموژنایز شده برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. سپس به منظور تخمین بار میکروبی رقت‌های  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$  روی محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) ریخته شد و در دمای  $^{\circ}\text{C}$  ۳۰ به مدت ۷۲ ساعت طبق روش مرجع ISO ۴۸۳۳ (۱۱) آنکوبه شد. برای تخمین میزان کپک ها و مخمرها از محیط کشت (YGC) استفاده شد (۱۳). جهت تخمین تعداد باکتریهای کولیفرمی مطابق

آویشن شیرازی<sup>۵</sup> که با اشعه گاما ضد عفونی می شوند نشان دادند که از بین گیاهان مورد بررسی فقط اسانس گیاه گشنیز دچار تغییرات شده بود. اوح و همکاران (۲۱) تاثیر دوزهای ۰، ۱، ۳، ۵، ۷ و ۱۰ کیلوگری اشعه گاما را برای کاهش ضایعات ارگانیک ها روی نمونه های بومی و وارد شده به کشور کره (لفل سیاه<sup>۶</sup>، مرزنجوش<sup>۷</sup>، پودر سیر<sup>۸</sup>، پودر فلفل قرمز<sup>۹</sup>، زنجبیل، پودر پیاز<sup>۱۰</sup> و آویشن<sup>۱۱</sup>) مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که دوز ۳ کیلو گری یا بیشتر برای حذف میکروارگانیک ها موثر است. سوربانی و همکاران (۲۴) تاثیر دوزهای مختلف ۰، ۵/۵، ۱۱/۴ و ۱۷/۸ کیلوگری اشعه گاما روی ژینکو و گوارانا را بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که دوز ۱۷/۸ بیشترین تاثیر را در ضد عفونی میکروپها از جمله انتروباکتریاسه، قارچها و باکتریهای هوازی کل داشت به طوری که باکتریهای هوازی کل (بر اساس cfu/g) در ژینکو<sup>۱۲</sup> و گوارانا<sup>۱۳</sup> (بترتیب از  $1 \times 10^4$  و  $1 \times 10^7 \times 1/4$  در تیمار شاهد) به صفر رسید، میزان قارچها در ژینکو از  $2/5 \times 10^2$  در تیمار شاهد به ۲ کاهش یافته بود و میزان انتروباکتریاسه در گوارانا به صفر رسید. تحقیقات اینان و همکاران (۱۰) و اکباس و همکاران (۷) نشان داد که ازون افلاتوکسین B1 و اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس را کاهش داد. ادرنجبویه<sup>۴</sup> گیاهی علفی و چند ساله متعلق بته خانواده لمیاسه (Lamiaceae) که منشا شرق مدیترانه و جنوب اروپا است. اسانس حاصل از برگها و پیکره رویشی این گیاه در صنایع مختلف از جمله داروسازی، غذایی و صنایع آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد. اسانس این گیاه در درمان بیماریهای مختلف شامل ناراحتیهای عصبی، معده، سردرد، روماتیسم و قلبی و روده ای که منشا عصبی دارند استفاده میشود علاوه بر این اسانس آن خاصیت قارچی و باکتریایی دارد، سترونلال، سیترال، ژرانیول، لینالول و استات اوگنول از عمده ترین ترکیبات بادرنجبویه می باشد (۱، ۱۸ و ۱۹)

- 1- *Bunium persicum* (Boiss.)
- 2 - *Cuminum cyminum* L.
- 3 - *Melissa officinalis* L.
- 4 - *Thymus vulgaris* L
- 5 - *Zataria multiflora* Boiss
- 6 - *Piper nigrum*
- 7 - *Origanum vulgare* L
- 8 - *Allium sativum*
- 9 - *Capsicum frutescens*
- 10 - *Allium cepa*
- 11 - *Thymus vulgaris*
- 12 - *Ginkgo biloba* L
- 13 - *Paullinia cupana* H.B.K
- 14- *Melissa officinalis* L

استفاده از نرم افزار SAS 9.1 آنالیز شد و مقایسه میانگین ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

## نتایج

### اشعه گاما

نتایج حاصل از آنالیز تجزیه واریانس (جدول ۱) تاثیر دوزهای مختلف اشعه گاما بر بار میکروبی بادرنجبویه در جدول زیر منعکس شده است نتایج حاکی از آن است که پرتو گاما تاثیر معنی داری بر بار میکروبی این گیاه بر جای گذاشت.

روش استاندارد ISO ۴۸۳۲ (۱۲) عمل شد به این صورت که ابتدا رقت های ۱۰-۱، ۱۰-۲ میلی لیتر از محلول روی محیط کشت و بولت رد بایل لاکتوز آگار (VRBL) به صورت دو لایه ریخته شد، سپس پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ °C آنکوبه و کلنی های تشکیل شده شمارش شدند. این پژوهش در دو آزمایش مجزا که در آزمایش اول بررسی تاثیر اشعه گاما در ۵ سطح ۰، ۳، ۷، ۱۰ و ۱۵ کیلوگرمی بصورت طرح کامل تصادفی انجام شد، و آزمایش دوم بررسی تاثیر گاز ازون با غلظت های ۰، ۳/۰، ۶/۰ و ۹/۰ میلیگرم در لیتر در زمان های ۱۰ و ۳۰ دقیقه بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام پذیرفت، سپس داده های بدست آمده با

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تاثیر پرتو گاما بر بار میکروبی (log cfu/g) بادرنجبویه

Table 1- ANOVA of gamma irradiation effect on microbial load of Meliss

| منابع تغییرات<br>Source of variation | درجه آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>Means of squares |                            |                     |
|--------------------------------------|------------------|------------------------------------|----------------------------|---------------------|
|                                      |                  | شمارش کلی<br>Total count           | کپک و مخمر<br>Mold & Yeast | کولیفرم<br>Coliform |
| پرتو گاما<br>Gamma radiation         | 4                | 1.39**                             | 0.19**                     | 1.11**              |
| خطا<br>Error                         | 10               | 0.00                               | 0.01                       | 0.00                |
| ضریب تغییرات<br>CV (%)               |                  | 1.95                               | 3.70                       | 2.94                |

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

\*\* significant at 1%

کیلوگرمی و کمترین بار میکروبی در دوزهای ۱۰ و ۱۵ کیلوگرمی مشاهده شد. بطور کلی در بین دوزهای اشعه گاما که برای سالم سازی نمونه های گیاه بادرنجبویه استفاده شد دوز ۱۵ کیلوگرمی بیشترین تاثیر را در کاهش بار میکروبی این گیاه به خود اختصاص داد در حالی که کاهش قابل توجهی در بار میکروبی در سایر دوزهای استفاده شده اشعه گاما مشاهده نشد.

### ازون دهی

در جدول تجزیه واریانس زیر نتایج حاصل از بررسی تاثیر گاز ازون در غلظت های ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ ppm در زمان های ۱۰ و ۳۰ دقیقه بر بار میکروبی نمونه های گیاه بادرنجبویه نشان داده شد (جدول ۳). مطابق این جدول ازون دهی بطور معنی داری میزان کپک و مخمر و باکتری های کولیفرمی را تحت تاثیر قرار داد. ولی اثر متقابل ازون در زمان بر میزان شمارش کلی معنی دار نشد.

مطابق جدول (۲) مقایسه میانگین مربوط به تاثیر پرتوتابی با دوزهای مختلف پرتو گاما بر بار میکروبی نمونه های گیاه بادرنجبویه، کمترین شمارش کلی در دوز ۱۵ کیلوگرمی مشاهده شد این در حالی است که بیشترین شمارش کلی مشاهده شده در دوزهای ۳ کیلوگرمی بود و شمارش کلی در این تیمار اختلاف معنی داری با دوز ۷ کیلوگرمی نداشت. و تیمار شاهد و دوز ۱۰ کیلوگرمی از نظر شمارش کلی تفاوت معنی داری نشان ندادند و شمارش کلی آنها در یک سطح بود این نتایج نشان داد که نمونه های گیاه بادرنجبویه که با دوز ۱۵ کیلوگرمی اشعه گاما پرتو دهی شدند تاثیر بهتری در کاهش شمارش کلی داشت. تاثیر اشعه گاما بر تعداد کپک و مخمر مشخص کرد که تیمار شاهد و دوز ۳ کیلوگرمی اشعه گاما دارای بیشترین تعداد کپک و مخمر و دوز ۱۵ کیلوگرمی دارای کمترین تعداد این آلودگی بود که البته بار میکروبی مشاهده شده در این تیمار کاهش معنی داری در مقایسه با دوز ۷ کیلوگرمی نداشت هم چنین تعداد کپک و مخمر موجود در دوزهای ۷ و ۱۰ کیلوگرمی تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. مشاهدات حاصل از این جدول نشان داد که تعداد باکتری های کولیفرمی تحت تاثیر پرتو دهی با دوزهای مختلف اشعه گاما کاهش یافت بطوریکه بیشترین بار میکروبی در تیمار شاهد و دوزهای ۳ و ۷



جدول ۲- مقایسه میانگین بار میکروبی بادرنجبویه تحت تاثیر پرتو گاما (log cfu/g)

Table 2- Mean comparison of Meliss microbial load affected by gamma irradiation

| پرتو گاما<br>Gamma radiation | شمارش کلی<br>Total count | کپک و مخمر<br>Mold & Yeast | کولیفرم<br>Coliform |
|------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|
| شاهد<br>Control              | 1.05 b                   | 4.08 a                     | 3.84 a              |
| 3                            | 4.47 a                   | 4.05 a                     | 3.85 a              |
| 7                            | 4.42 a                   | 3.64 bc                    | 3.76 a              |
| 10                           | 4.09 b                   | 3.78 b                     | 2.79 b              |
| 15                           | 2.79 c                   | 3.49 c                     | 2.63 b              |

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در  $p \geq 0.05$

Means followed by the same letter in a column are not significantly different using LSD test at  $p \geq 0.05$

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تاثیر گاز ازن بر بار میکروبی (log cfu/g) بادرنجبویه

Table 3- ANOVA of Ozone gas effect on microbial load of Meliss

| منابع تغییرات<br>Source of variation | درجه آزادی<br>df | میانگین مربعات           |                            |                     |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------|
|                                      |                  | شمارش کلی<br>Total count | کپک و مخمر<br>Mold & Yeast | کولیفرم<br>Coliform |
| گاز ازن<br>Ozone gas                 | 3                | 54.11 **                 | 13.56 **                   | 15.84 **            |
| زمان<br>time                         | 1                | 1.03 **                  | 2.84 **                    | 2.68 **             |
| زمان × ازن<br>Ozone × time           | 16               | 24.0 <sup>ns</sup>       | 0.58 *                     | 0.82 **             |
| خطا<br>Error                         | 40               | 0.09                     | 0.12                       | 0.11                |

ns، \*، \*\* و \*ns ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم معنی داری

\*\*، \* significant; ns = non-significant, respectively at  $p < 0.05$

که در شاهد ۵۱/۴ بود در تیمار ازن دهی با غلظت ۰/۹ ppm در مدت زمان ۳۰ دقیقه به صفر رسید. طبق نتایج این تحقیق به غیر از تیمار ازن با غلظت ۰/۳ ppm در مدت زمان ۳۰ دقیقه که تفاوت معنی داری از لحاظ این آلودگی با تیمار ازن دهی با غلظت ۰/۶ ppm در مدت زمان ۱۰ دقیقه نداشت در سایر تیمارها مورد استفاده جهت ضد عفونی نمونه های گیاه بادرنجبویه کاهش تدریجی باکتری های کولیفرمی با افزایش غلظت ازن و زمان قرار گیری نمونه های گیاهی در برابر گاز ازن مشاهده شد. ضمناً بعد از تیمار ازن با غلظت ۰/۹ ppm در مدت زمان ۳۰ دقیقه استفاده از تیمار ازن با غلظت ۰/۹ ppm در مدت زمان ۱۰ دقیقه بیشترین تاثیر را در کاهش باکتری های کولیفرمی داشت. نتایج این بررسی حاکی از آن بود که کاربرد گاز ازن جهت ضد عفونی گیاه بادرنجبویه از نظر شمارش کلی، کپک و مخمر و باکتری های کولیفرمی تیمار موثری در کاهش این آلودگی ها بود که این تیمار بطور موثری بار میکروبی را کاهش داد و حتی باعث حذف کپک و مخمر و باکتری های کولیفرمی در نمونه های مورد بررسی این گیاه شده است.

نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر را در کاهش بار میکروبی تیمار ازن با غلظت ۰/۹ ppm به خود اختصاص داد در صورتی که بیشترین بار میکروبی در شاهد مشاهده شد (جدول ۵). در مدت زمان ۳۰ دقیقه کمترین بار میکروبی در مقایسه با شاهد و زمان ۱۰ دقیقه یافت شد (جدول ۴). نتایج بررسی (شکل ۱) تاثیر ازن دهی نمونه های گیاه بادرنجبویه نشان داد که کپک و مخمر بطور چشمگیری تحت تاثیر این تیمار قرار گرفت بطوریکه باعث شد کپک و مخمر از ۲/۴ در شاهد به صفر در غلظت ۰/۹ ppm در زمان ۳۰ دقیقه کاهش یافت. اما کپک و مخمر مورد بررسی در تیمار ازن با غلظت ۰/۳ ppm در زمان های ۱۰ و ۳۰ دقیقه و غلظت ۰/۶ ppm در مدت زمان ۱۰ دقیقه اختلاف معنی داری نداشتند. این در حالی است که از تیمار گاز ازن با غلظت ۰/۳ ppm در مدت زمان ۳۰ دقیقه تا تیمار ازن در مدت زمان ۳۰ دقیقه کاهش تدریجی کپک و مخمر و در نهایت حذف این آلودگی مشاهده شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین تاثیر گاز ازن بر بار میکروبی گیاه بادرنجبویه مربوط به تاثیر آن بر باکتری های کولیفرمی بود (شکل ۲). بطوریکه تعداد این باکتریها

جدول ۴- مقایسه میانگین بررسی بار میکروبی (Log cfu/g) گیاه بادرنجبویه در زمان‌های مختلف تحت تاثیر پرتو گاما  
Table 4- Mean comparison of Melissa microbial load at different times affected by gamma irradiation

| زمان<br>Time<br>(min) | شمارش کلی<br>Total count | کپک و مخمر<br>Mold & Yeast | کولیفورم<br>Coliform |
|-----------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------|
| 10                    | 3.47 a                   | 3.16 a                     | 3.43 a               |
| 30                    | 3.05 b                   | 2.47 b                     | 2.76 b               |

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در  $p>0.05$ .

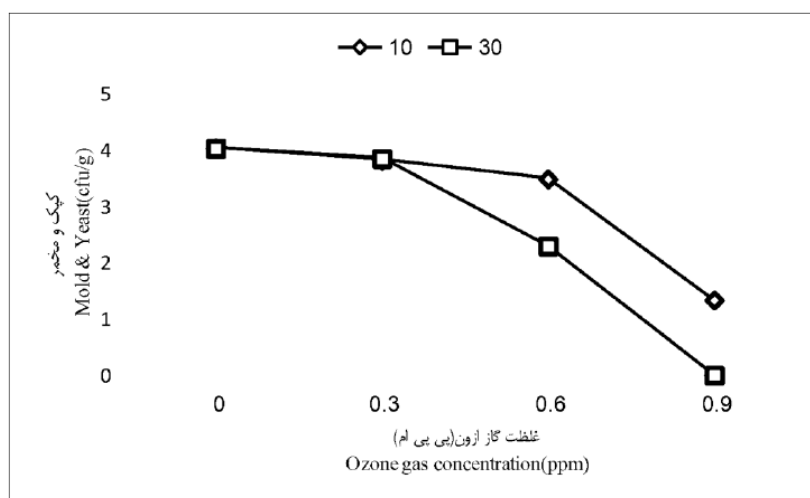
Means followed by the same letter in a column are not significantly different using LSD test at  $p=0.05$

جدول ۵- مقایسه میانگین بررسی بار میکروبی (Log cfu/g) گیاه بادرنجبویه در زمان‌های مختلف بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف ازون  
Table 5- Mean comparison of Melissa microbial load affected by Ozone different concentrations

| ازون<br>Ozone<br>(ppm) | شمارش کلی<br>Total count | کپک و مخمر<br>Mold & Yeast | کولیفورم<br>Coliform |
|------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------|
| 0                      | 4.51 a                   | 4.02 a                     | 4.51 a               |
| 0.3                    | 4.06 b                   | 3.64 a                     | 3.98 b               |
| 0.6                    | 3.10 c                   | 2.93 b                     | 3.05 c               |
| 0.9                    | 1.38 d                   | 0.6 c                      | 0.83 d               |

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون LSD در  $p>0.05$ .

Means followed by the same letter in a column are not significantly different using LSD test at  $p=0.05$



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل کپک و مخمر (Log cfu/g) بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت‌های گاز ازون در زمان‌های مختلف

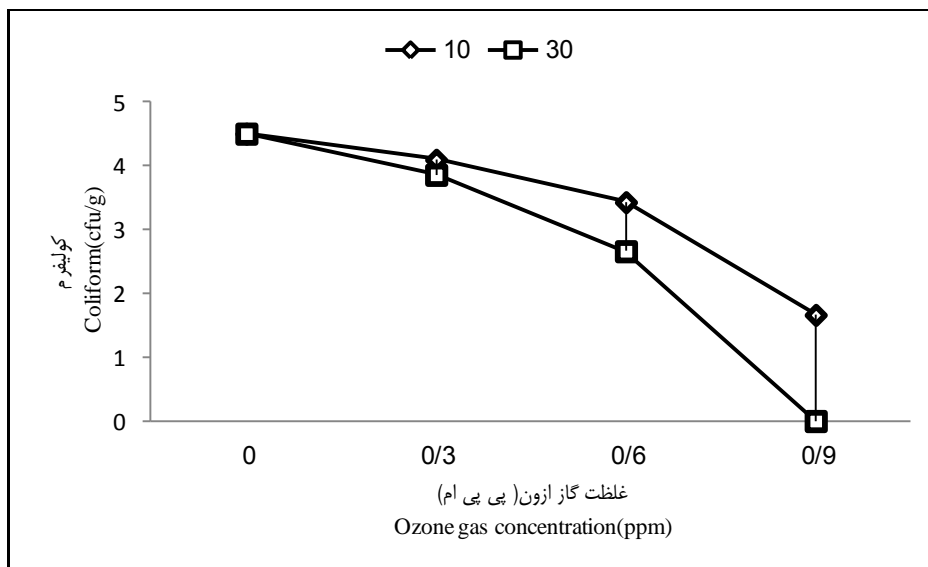
Figure 1- Mean comparison of interaction effect meliss affected by Mold and Yeast and ozone gas concentrations in different times

#### بحث

بیشترین تاثیر را در کاهش بار میکروبی نعنا فلفلی<sup>۱</sup>، مرزه<sup>۲</sup> و آیشن شیرازی<sup>۳</sup> داشت. اینان و همکاران (۱۰) نشان دادند مقدار افلاتوکسین B1 در فلفل قرمز بترتیب ۸۰٪ و ۹۰٪ بعد از قرارگیری در برابر ازون کاهش یافت.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد در بین غلظت‌های گاز ازون استفاده شده جهت ضدعفونی نمونه‌های بادرنجبویه غلظت ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۳۰ دقیقه کمترین بار میکروبی را دارا بود و حتی حذف کامل کپک و مخمر و کولیفورم را باعث شد که این نتایج با نتایج ولی اصیل و همکاران (۲۳) مطابقت دارد آنان نشان دادند که غلظت ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۳۰ دقیقه

- 1- *Mentha piperita*
- 2- *Satureja hortensis*
- 3- *Zataria multiflora*



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل کولیفورم (Log cfu/g) بادرنجبویه تحت تاثیر غلظت‌های گاز اوزون در زمان‌های مختلف

Figure 2- Mean comparison of interaction effect melissa affected by Coliform and ozone gas concentrations in different times

۳۰ کیلوگری اشعه گاما تا ۳۰ روز حذف کامل تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌های کولیفورمی و کپک و مخمر را در مرزنجوش در پی داشت. آلام و همکاران (۸) با بررسی تاثیر اشعه گاما روی گیاهان دارویی زیره سبز، زرد چوبه، فلفل و گشنیز که دارای میزان زیادی آلودگی باکتریایی و قارچی بودند نشان دادند که دوز ۱۰ کیلوگری برای کاهش آلودگی به باکتری و میزان ۵ کیلوگری برای حذف آلودگی قارچی کافی بود باکتری‌های کولیفورمی در دوز ۵ کیلوگری حذف شدند و در مدت انبار ۶ ماهه تیمار با اشعه باعث افزایش بار کیفیت شده بود. نتایج این پژوهش نشان دهنده این مطلب است که کاربرد گاز اوزون به منظور ضد عفونی گیاه بادرنجبویه نسبت به پرتو تابی با اشعه گاما تاثیر چشمگیر تری داشت. و این در حالی است که اشعه گاما فقط باعث کاهش بار میکروبی شده بود بطوریکه ولی اصیل و همکاران گزارش نمودند که اشعه گاما سبب کاهش بار میکروبی آویشن شیرازی شد. هم چنین ابرار و همکاران (۵) با بررسی تاثیر دوره انبار و دوزهای ۲، ۴ و ۶ کیلوگری اشعه گاما روی فلفل قرمز نشان دادند که افلاتوکسین در دوره انبار ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز در همه دوزها به جز دز ۶ کیلوگری افزایش یافته بود. بطور کلی نتایج نشان داد که گاز اوزون می تواند به عنوان یک روش ضد عفونی مهم جهت ضد عفونی گیاه بادرنجبویه مورد استفاده قرار گیرد. محققان دیگر نیز با بررسی تاثیر اوزون و اشعه گاما نشان دادند که این دو روش ضد عفونی سبب کاهش و یا ضد عفونی کامل بار میکروبی محصولات مختلف می شود.

نتایج اکباس و همکاران (۷) حاکی از آن بود که تیمار اوزون با غلظت ۱ میلیگرم در لیتر در مدت زمان ۳۶۰ دقیقه میتواند تعداد اشرشیاکلی و باسیلوس سرئوس را در فلفل قرمز کاهش دهد ولی غلظت اوزون بیشتر از ۵ میلیگرم در لیتر می تواند برای کاهش اسپورهای باسیلوس سرئوس مورد استفاده قرار گیرد. اکباس و ازدمیر (۶) مشاهده کردند که غلظت ۱ میلیگرم در لیتر اوزون به مدت ۳۶۰ دقیقه تعداد اشرشیاکلی و باسلوس سرئوس را به میزان ۳/۵ لگاریتمی را در نمونه‌های انجیر خشک کاهش داد. کاهش ۲ لگاریتمی تعداد اسپورهای باسیلوس سرئوس در غلظت بیشتر از ۱ میلیگرم در لیتر در پایان زمان ۳۶۰ دقیقه مشاهده شد. گزارش شد که میزان باسیلوس سرئوس و میکروکوکوس در گیاهان ادویه ایی تا ۶ سیکل لگاریتمی کاهش یافت (۱۹، ۲۰، ۱۴ و ۲۴). اما نتایج بدست آمده از کاربرد اشعه گاما بر بار میکروبی بادرنجبویه نشان داد که در مجموع دوز ۱۵ کیلوگری اشعه گاما بیشترین تاثیر را در کاهش بار میکروبی داشت (۹)، و کمترین بار میکروبی در شاهد مشاهده شد. محققان نشان دادند که اشعه گاما موجب کاهش برا میکروبی گیاهان مختلف شد در این میان ختاک و همکاران (۱۵) تاثیر دوزهای ۱، ۲، ۴ و ۶ کیلوگری اشعه گاما طی مدت ۱۲ روز در انبار در دمای ۴ سانتی گراد را روی ریزوم نیلوفر آبی مورد بررسی قرار داد نتایج نشان داد که تعداد باکتریها در روز نهم و دوازدهم نسبت به روز اول در تمام دوزهای به کار رفته افزایش یافته بود و تعداد قارچها از روز اول به بعد افزایش چشمگیری یافته بود. سادکا و همکاران (۲۲) نشان دادند که که دوزهای ۵، ۷، ۱۰ و



## منابع

- 1- Abrar M., Anjum F.M., Zahoor T., and Nawaz H. 2009. Effect of Storage Period and Irradiation Doses on Red Chillies. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (8): 1287-1291.
- 2- Akbas M.Y., and Ozdemir M. 2008. Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. *Journal of Food Microbiology*, 25: 386–391.
- 3- Akbas M.Y., and Ozdemir M. 2008. Effect of gaseous ozone on microbial inactivation and sensory of flaked red peppers. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 1657–1662.
- 4- Alam M.K., Choudhury N., Chowdhury N.A., and Yousoufi, Q. M. 1992. Decontamination of spices by gamma radiation. *Letters in Applied Microbiology*, 14:199-202.
- 5- Dadkhah A., Kalafi H., Rajaii R., Alame A., Rezaii MB., and Siyhon M. 2009. Study of the Effects of gammairradiation on microbial load and efficient extracts of caraway seeds. *Journal of Nuclear Science and Technology*, 49: 27-34. (in Persian with English abstract).
- 6- Gupta P.C., Garg N., and Joshi P. 2011. Effect of gamma irradiation on the extraction yield and microbial contamination of medicinal plants. *International Journal of Food Safety*, 13: 351-354.
- 7- Inan F., Pala M., and Doymaz I. 2007. Use of ozone in detoxification of Aflatoxin B1 in red pepper. *Journal of Stored Products Research*, 43: 425–429.
- 8- International Organization for Standardization ISO 4833:2003. 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs horizontal method for the enumeration of microorganisms-colony count technique at 30°C. Geneva.
- 9- International Organization for Standardization, ISO 4832. 2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique. Geneva. 6 pp.
- 10- International Organization for Standardization, ISO 7954:1987. 1987. Microbiology – General guidance for enumeration of yeasts and moulds – Colony count technique at 25 °C. Geneva. 3 pp.
- 11- Khadre M.A., and Yousef A. E. 2001. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. *International Journal of Food Microbiology*, 71: 131–138.
- 12- Khattak K.F., Simpson T.J., and Ihasnullah. 2009. Effect of gamma irradiation on the microbial load, nutrient composition and free radical scavenging activity of *Nelumbo nucifera* rhizome. *Journal of Radiation Physics and Chemistry*, 78: 206–212.
- 13- Kneifel W., Czech E., and Kop, B. 2002. Microbial contamination of medicinal plants. A review. *Journal of medicinal plant and natural product research*, 6:5–15.
- 14- Masakova N.S., Tsevatuy B.S., Trofimenko S.L., and Remmer G.S. 1979. The chemical composition of volatile oil in lemon-balm as an indicator of therapeutic use. *Journal of medicinal plant and natural product research*, 36: 274.
- 16- Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M., and Simin N. 2004. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Melissa officinalis* L Lamiaceae) Essential Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 485-489.
- 17- Naitoh S., Okada Y., and Sakai T. 1987. Studies on utilization of ozone in food preservation: III. Microbicidal properties of ozone on cereal grains, cereal grain powders, peas, beans, and whole spices. *Journal of Japan Food Science & Technology Society*, 34: 788–793.
- 18- Naitoh S., Okada Y., and Sakai T. 1988. Studies on utilization of ozone in food preservation: V. Changes in microflora of ozone treated cereals, grains, peas, beans, and spices during storage. *Journal of Japan Food Science & Technology Society*, 35: 69–77.
- 19- Oh K.N., Lee S.Y., Lee H.J., Kim K.E., and Yang J.S. 2003. Screening of gamma irradiated spices in Korea by using a microbiological method (DEFT/APC). *Journal of Food Control*, 14:489–494.
- 20- Omidbaigi, R. 2009. Production and processing of medicinal plants. V3. Astan quds razavi publications. Mashhad. (in Persian with English abstract).
- 21- Sadecka J., and Polovka M. 2008. Multi- experimental study of  $\gamma$ - radiation impact on oregano (*Origanum vulgare* L.). *Journal of Food and Nutrition Research*, 47(2): 85-91.
- 22- Salehi Sormaghi MH., Amin G., Zahedi H., and Kochesfahani H. 2007. The investigation of essential oil changes of medicinal plants that are decontaminated with gamma radiation. *Journal of Medicinal Plants*, 2(22): 71-76. (in Persian with English abstract).
- 23- Saputra T.S., Maha M. and Purwanto Z.I. 1983. Quality changes of irradiated spices stored in various packaging materials. *Risalah Seminar Nasional Pengawetan Makanan Dengan Iradiasi*, Jakarta.
- 24- Soriani R.R., Satomi L.C., and Pinto T.J.A. 2005. Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. *Journal of Radiation Physics and Chemistry*, 73:239–242.
- 25- Valiasill R., Azizi M., Bahreini M., and Aroiee AH. 2012. The effect of gamma irradiation on microbial load and essential oil compound of Shirazi thyme (*Zataria multiflora*). *Journal of postharvest physiology and technology of horticultural crops*. 1:43-53. (in Persian with English abstract).
- 26- Valiasill R., Azizi M., Bahreini M., and Arouiee H. 2013. The Investigation of Decontamination Effects of Ozone Gas on Microbial Load and Essential Oil of Several Medicinal Plants. *Journal of Notulae Scientia Biologicae*,

5(1):34-38. (in Persian with English abstract).

27- Zhao J., and Cranston P.M. 1995. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of Science Food and Agriculture*, 68: 11–18.



## The Disinfectants effect of Gamma Radiation and Ozone Gas on Microbial Load of Meliss (*Melissa officinalis*)

R. Valiasill<sup>1\*</sup>- M. Azizi<sup>2</sup>- H.Aroiee<sup>3</sup>- M. Bahraini<sup>4</sup>- M. Morabaian<sup>5</sup>

Received: 24-09-2013

Accepted: 30-05-2016

**Introduction:** Today, tendency to use drugs and therapies with herbal and natural products are increasing because negative effects of chemical drugs and environmental pollution have been proved. Collection and handling of medicinal plants are not usually done in sanitary conditions and difference in cultivation conditions can also increase pollution, influencing the maintenance period and damaging the aspect and the potential benefit of medicinal plants. Medicinal plants decontaminate with different methods that each of these methods has different effects on their microbial load. Therefore it seems essential to use of methods that can have the highest effect on microbial load decrease and the lowest effect on active substance of these plants.

**Materials and Methods:** In order to evaluate the effects of Ozone gas and gamma irradiation on microbial load of *Melissa officinalis*, an experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications. Plant samples were collected from the Research farm of, Ferdowsi University of Mashhad. Meliss leaves were treated by Ozone gas concentrations 0.3, 0.6 and 0.9 ml/L for 10 and 30 min and irradiated at dosages 3, 7, 10 and 15 KGy by a Co60 source. Then microbial load of Meliss leaves were measured. Coliform bacteria were determined using Violet Red Bile lactose (VRBL) agar (Liofilchem Co., Italia), according to the method of ISO4832. According to ISO 7954, yeast extract of glucose chloramphenicol agar (Liofilchem Co., Italia) was used for determination of mold and yeast. The total count (plate count agar, Liofilchem Co., Italia) was determined by method of ISO 4833, that each replicate was tested with duplicate pour plates. Ozone gas was produced by corona discharge Ozone generator with production capacity 10 g/h of Ozone gas (OZONEAB co. A.S10. Iran). Analysis of variance and means comparison were calculated using SAS 9.1 (Cary, NC, USA, 2002-2003). Means square comparisons were different at the 5% significance level by the least significant difference test.

**Results and Discussion:** The effect of Gamma radiation on microbial load such as total count, molds, yeasts and Coliform was significant ( $p < 0.05$ ), so the highest effect of irradiation on the microbial load was related to the dosage of 15 KGy. However 10 KGy decreased microbial load, but 3 and 7 KGy had no effect on reduction of total count, molds, yeasts and Coliform. According to results of this study, the use of ozone gas, exposure duration to the meliss samples and interaction of duration and ozone gas on microbial load was significant. The highest and lowest levels of contamination were observed in control and 0.9 ppm concentration of ozone gas for 30 min, respectively. Non-ozonation meliss samples showed maximum level of mold and yeast count. Also Coliform were eliminated with 0.9 ppm concentration of ozone gas for 30 min in meliss. It was found that by increasing the Ozone gas concentrations from 0.3 ppm to 0.9 ppm, microbial load reduced significantly ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** The result showed that both methods decreased microbial load of Meliss. Ozone gas had higher effect than gamma on reduction of microbial load of this plant. Concentrations of ozone gas utilized for decontamination of medicinal plants were 0.9 ppm ozone gas and 15 KGy dosages that those concentrations had the highest effect on total count, mold and yeast and Coliform. Control of environmental conditions and hygiene improvement in production process of medicinal plants such as meliss is essential. In addition, it is recommended to choose a suitable decontamination method for disinfection during packing of medicinal plants and post-packing manipulation and transport. This study showed that gamma irradiation can use as an important decontamination method to reduction the microbial load of meliss. Furthermore, the use of ozone as a method of disinfection for medicinal plants decontamination is a suitable method of decontamination. Finally, the results showed that the use of ozone for disinfection of Meliss is inexpensive and suitable disinfection techniques than gamma radiation. However, further research needs to improve our understanding on duration of exposure to ozone and its impact on active substances of Meliss.

**Keyword:** Gamma irradiation, Meliss, Microbial load, Ozone gas

1, 2, 3 and 5 - M.Sc., Professor, Associate Professor and M.Sc., Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(\* - Corresponding Author Email: valiasill.razieh@mail.um.ac.ir)

4- Assistant Professor, Biology Department, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran





## بررسی کاربرد بسته‌بندی نانو بر ماندگاری و خواص کیفی میوه هلو رقم آبرتا

محمد رضا اصغری<sup>۱</sup> - محمد توحیدیان<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۱۵

### چکیده

هلو به‌عنوان میوه‌ای فرازگرا سرعت و شدت تنفس بالایی داشته و عمر نگهداری بسیار پایینی دارد، به همین خاطر استفاده از تکنولوژی مناسب پس برداشت برای افزایش عمر محصول ضروریست. امروزه استفاده از فناوری نانو به‌عنوان گزینه‌ای مناسب برای افزایش عمر نگهداری میوه‌ها مطرح می‌باشد. به‌منظور بررسی تأثیر بسته‌بندی نانو بر ماندگاری و خواص کیفی میوه هلو رقم آبرتا از بسته‌بندی نانو نقره، نانو کامپوزیت نقره و سیلیکا و بسته‌بندی پلی‌پروپیلن استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار انجام پذیرفت و خواص کیفی میوه پس از ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز نگهداری در سردخانه با دمای صفر تا ۵/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۵ درصد اندازه‌گیری شد. خواص کیفی از جمله سفتی، کاهش وزن، pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک، آنتی‌اکسیدان کل و فنل کل اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در پایان دوره نگهداری، میوه‌های هلو بسته‌بندی شده در ظروف نانو نقره، بیشترین میزان سفتی بافت، کاهش وزن، مواد جامد محلول و آنتی‌اکسیدان کل را داشتند. بسته‌بندی نانو نقره از افزایش میزان فنل کل میوه هلو جلوگیری کرد. همچنین در بسته‌بندی‌های نانو، اسیدیته قابل تیتراسیون در طی دوره نگهداری نسبت به بسته‌بندی پلی‌پروپیلن بسیار پایین‌تر بود. نتایج نشان داد که بسته‌بندی‌های نانو نقره و نانو کامپوزیت نقره و سیلیکا باعث حفظ بهتر میزان اسید آسکوربیک در مقایسه با بسته‌بندی پلی‌پروپیلن شدند.

**واژه‌های کلیدی:** اسید آسکوربیک، آنتی‌اکسیدان کل، فنل، نانو نقره، نانو کامپوزیت

### مقدمه

محصولات غذایی می‌باشد. یک نانوذره، ذره‌ای است که ابعاد آن در حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. در بسته‌بندی‌های نانو، ذرات نانو به‌صورت زیگزاگ قرار گرفته‌اند و مانند سدی از عبور اکسیژن ممانعت می‌کنند. خاصیت ضد میکروبی بسته‌های نانوذرات به این دلیل است که ذرات نانو با افزایش سطح ویژه‌ای که در مقیاس نانو پیدا کرده‌اند به سطح پوسته سلول چسبیده، کارهای معمولی سلول نظیر تنفس و انتقال مواد را مختل می‌کنند. نتایج امامی‌فر و همکاران (۶) نشان داد که میزان رشد عوامل میکروبی در نتیجه استفاده از نانو کامپوزیت به‌طور معنی‌داری در آب پرتقال تازه کاهش یافت. بسته‌بندی ساخته شده از نانو کامپوزیت حاوی نقره تأثیرات ضد میکروبی بارزتری در مقایسه با نانو اکسید روی در طی ۱۱۲ روز نگهداری آب پرتقال نشان داد (۶). بسته‌بندی نانو نقره، قهوه‌ای شدن سیب را به تأخیر انداخت و کاهش وزن قطعات سیب در طی نگهداری را کاهش داد. علاوه بر این، بسته‌بندی نانو نقره می‌تواند از فساد میکروبی قطعات سیب جلوگیری کند (۱۶). نتایج حاصل از تحقیقی دیگر که بر روی زرشک صورت گرفت نشان داد که تقریباً در مدت ۵ ماه نگهداری، رنگ ظاهری نمونه‌های مربوط به بسته‌های حاوی نانو ذرات نقره در

هلو (*Prunus persica*) از میوه‌های فرازگرا می‌باشد و باید در مرحله کمی بالغ یا بلوغ کامل اما کاملاً نرسیده زمانی که آماده خوردن است برداشت شود. آغاز رسیدن میوه هلو باید قبل از رسیدن به دست مصرف‌کننده صورت پذیرد (۱۲). مشکل اساسی در نگهداری میوه‌ها و سبزی‌ها استفاده از مواد شیمیایی می‌باشد که باعث باقی‌گذاشتن بقایای شیمیایی و آسیب به سلامت انسان و محیط زیست می‌شوند از این‌رو امروزه یافتن راه‌های غیرشیمیایی و سالم برای نگهداری و افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه‌ها و مواد غذایی از اهمیت خاصی نزد محققان علم فیزیولوژی پس از برداشت برخوردار است (۲). یکی از این راه‌ها که در سال‌های اخیر نظر محققان را به خود جلب نموده، استفاده از نانو تکنولوژی در بسته‌بندی و نگهداری

۱ و ۲- دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\*-نویسنده مسئول: (Email: m.tohidian7008@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.30298

محاسبه گردید (۱۱).

$$100 \times \frac{\text{وزن میوه در انتهای انبارداری} - \text{وزن میوه قبل از انبارداری}}{\text{وزن میوه قبل از انبارداری}} = \text{درصد کاهش وزن میوه}$$

**pH آب میوه:** pH آب میوه با دستگاه pH متر دیجیتال مدل (pH-Meter CG 824) کالیبره شده با بافرهای ۴ و ۷ اندازه‌گیری شد (۱۰).

**اسیدیته قابل تیتراسیون:** برای اندازه‌گیری اسیدهای قابل تیتراسیون ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره میوه در داخل ارلن‌مایر ریخته شد و به آن ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و سپس با قرار دادن الکتروود pH متر دیجیتال مدل (pH-Meter CG 824) عمل تیتراسیون توسط هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال (۴ گرم در لیتر) تا  $\text{pH}=8/2$  صورت پذیرفت (۳).

**مواد جامد محلول:** برای این منظور چند قطره از آب‌میوه در دمای اتاق روی رفراکتومتر دستی مدل Atago Manual قرار گرفت و عدد مربوطه از روی ستون مدرج قرائت شد و داده‌ها برحسب بریکس یادداشت گردید (۱۰).

**اسید آسکوربیک:** مقدار اسید آسکوربیک (ویتامین C) عصاره میوه نیز به روش تیترسنجی (روش یدومتری) انجام شد و نتایج برحسب میلی‌گرم اسیدآسکوربیک در ۱۰۰ گرم نمونه بیان گردید (۱۰).

**آنتی‌اکسیدان کل:** برای تعیین میزان آنتی‌اکسیدان کل از روش فرپ<sup>۱</sup> با کمی تغییرات استفاده شد. ۲/۸۵ میلی‌لیتر محلول فرپ (شامل ۲۰۰ میلی‌لیتر بافر استات، ۲۰ میلی‌لیتر کلرور آهن، ۲۰ میلی‌لیتر TPTZ و ۲۴ میلی‌لیتر آب مقطر) برداشته شد و با ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره میوه مخلوط گردید و بعد از ۱۰ دقیقه در اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت شد و در نهایت با رسم منحنی استاندارد میزان آنتی‌اکسیدان کل بر حسب معادل آهن بدست آمد (به منظور تهیه محلول استاندارد از سولفات آهن<sup>۲</sup> استفاده شد) و بر حسب معادل میلی‌مول آهن در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید (۴).

**فنل کل:** اندازه‌گیری ترکیبات فنلی با استفاده از روش فولین سیوکالتو<sup>۳</sup> صورت گرفت و مقادیر فنل کل بر اساس معادل اسیدگالیک (GAE) و بر حسب میلی‌گرم در لیتر اندازه‌گیری شد و منحنی استاندارد رسم گردید. اسید گالیک از شرکت مرک آلمان تهیه گردید (۲۵).

مقایسه با نمونه‌های مربوط به بسته‌های پلی‌اتیلنی از کیفیت بهتری برخوردار بودند (۲۴). نتایج بینش و همکاران نشان داد که استفاده از تکنولوژی نانو در بسته‌بندی محصولات نظیر خرما که به دلیل شرایط خاص برداشت، بسته‌بندی، حمل‌ونقل و نگهداری دارای آلودگی میکروبی بالایی هستند، می‌تواند تأثیر قابل توجهی در کنترل آلودگی و افزایش زمان ماندگاری داشته باشد (۵).

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر بسته‌بندی نانو نقره و نانو کامپوزیت نقره و سیلیکا و پلی‌پروپیلن بر ماندگاری و خواص کیفی از جمله میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک، آنتی‌اکسیدان کل و فنل کل در میوه هلوی رقم آبرتا در دوره پس از برداشت در شرایط سردخانه بود.

## مواد و روش‌ها

ظروف نانو توسط شرکت نانو بسپار آیتک تهران در سه نوع ظروف نانو نقره، نانو کامپوزیت (دارای ذرات نانو نقره و نانو سیلیکا) و پلی‌پروپیلن ساخته شدند. غلظت ذرات نانو در هر ظرف ۵ درصد و اندازه ذرات نانو نقره در ظروف حداکثر ۲۰ نانومتر و نانو سیلیکا حداکثر ۵۰ نانومتر (۱۵ تا ۵۰) بود. میوه‌های هلوی رقم آبرتا از باغی در شهرستان ارومیه برداشت و بلافاصله به سردخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. میوه‌هایی که از لحاظ اندازه، رنگ و میزان رسیدگی مشابه و یکسان بودند انتخاب شده و در ظروف قرار گرفته و به سردخانه دانشکده با دمای صفر تا ۰/۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۵ درصد منتقل شده و به مدت ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز نگهداری شدند و پس از آن مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفاتی نظیر سفتی بافت میوه، کاهش وزن، pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول، اسید آسکوربیک، آنتی‌اکسیدان کل و فنل کل در فواصل زمانی ۱۵ روز در سردخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

## روش ارزیابی صفات

**سفتی بافت میوه:** به‌منظور تعیین سفتی بافت میوه از پنترومتر دستی مدل (FT327) با پروب ۸ میلی‌متری استفاده شد. میزان فشاری که بر حسب کیلوگرم در اثر مقاومت بافت میوه به نوک سفتی‌سنج وارد آمد از روی دستگاه قرائت گردید (۱۰). از هر دو طرف میوه نمونه‌گیری صورت گرفت و میانگین محاسبه شد.

**کاهش وزن:** برای ارزیابی میزان کاهش وزن، میوه‌ها در ابتدای آزمایش و قبل از شروع نگهداری با ترازوی دیجیتال مدل CANDGL300 با دقت ۵ گرم وزن شده و سپس در روزهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ مجدداً توزین شدند و میزان کاهش وزن میوه‌ها که در واقع ناشی از کاهش آب و قندهای محلول میوه‌ها می‌باشد از فرمول زیر

1 - Frap

2 - FeSO4.7H2O

3 - Folin ciocalteu

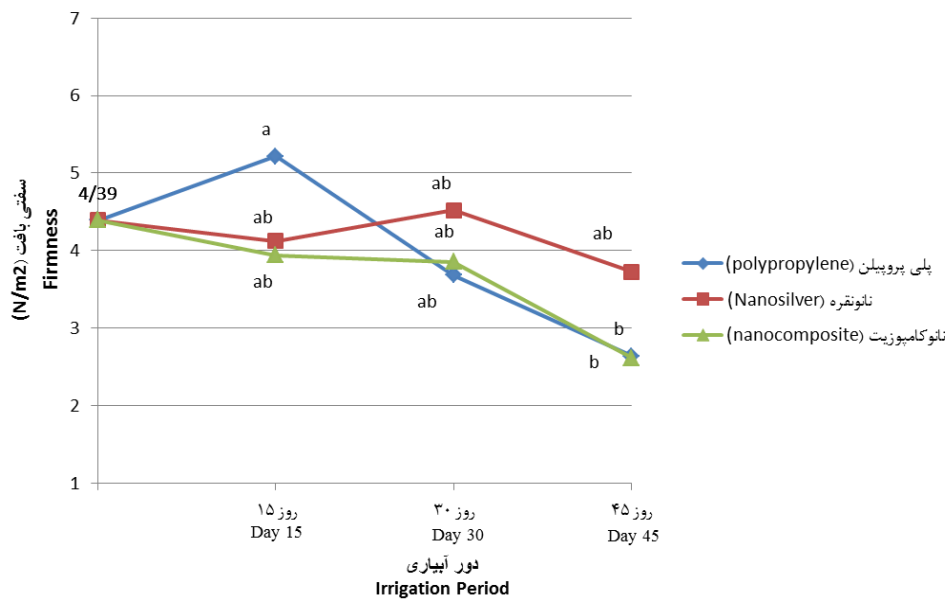
نرم شدن محصولات کشاورزی در دوره پس از برداشت ناشی از تفاوت در تغییرات فیزیکی شیمیایی محصول در دوران قبل، حین و بعد از برداشت می‌باشد که بخشی از آن توسط تیمارهای اعمال شده در مرحله پس از برداشت، قابل کنترل می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین سفتی بافت میوه هلو و زمان نگهداری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. طی ۳۰ روز اول نگهداری، سفتی بافت در ظروف نانو نسبت به ظروف پلی‌پروپیلن حفظ گردید. در پایان دوره نگهداری بیشترین میزان سفتی بافت هلو مربوط به ظروف نانو نقره بود که با نتایج هونگمی لی و همکاران (۹) مطابقت داشت. ظروف نانو کامپوزیت نیز کمترین میزان سفتی بافت را نشان داد که بر خلاف نتایج کیوهوئی و همکاران (۲۲) بود و تاکنون هیچ گزارشی در این زمینه ارائه نشده است. علت اصلی نرم شدن میوه، تخریب اجزای دیواره سلولی به‌ویژه پکتین است که توسط آنزیم‌های خاصی از قبیل پلی‌گالاکتوناز صورت می‌گیرد (۱۷).

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و با تکرار انجام گرفت. فاکتور اول شامل ظروف نانو نقره، نانو کامپوزیت و پلی‌پروپیلن و فاکتور دوم شامل مدت نگهداری در سردخانه به مدت ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روز بود. در کل، آزمایش شامل  $3 \times 3 \times 4 = 36$  واحد آزمایشی، و هر واحد آزمایشی شامل یک ظرف با ۴ میوه هلو رقم آلبرتا بود. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel 2010 استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

## نتایج و بحث

### سفتی بافت

یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عمر محصولات برداشت شده، میزان و سرعت نرم شدن بافت میوه است. تفاوت در میزان و سرعت



شکل ۱- اثر متقابل ظروف بسته‌بندی × زمان نگهداری بر میزان سفتی بافت میوه هلو رقم آلبرتا

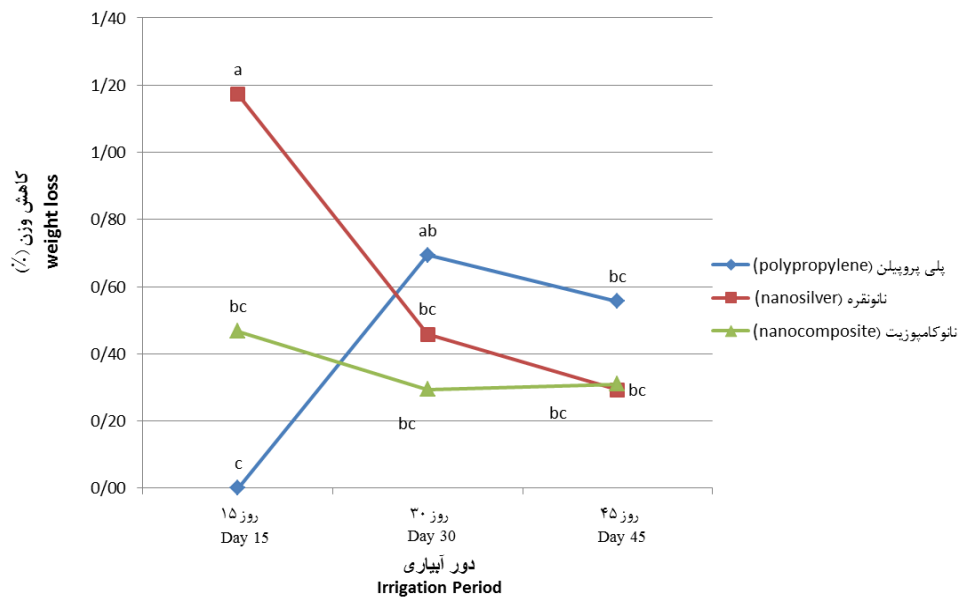
حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می‌باشد

Figure 1- Interaction effect of packaging × storage time on firmness of elberta peach  
Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test

مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش زمان نگهداری، ظروف پلی‌پروپیلن کاهش وزن بیشتری در مقایسه با ظروف نانو کامپوزیت نشان دادند که با نتایج کیوهوئی و همکاران (۲۲) و نتایج هونگمی لی و همکاران (۹) مطابقت داشت. درصد کاهش وزن در ظروف نانو نقره نیز با افزایش زمان نگهداری، کاهش نشان داد که نتایج لینگ ژو و همکاران (۱۶) مؤید این نتایج است. این نتایج نشان داد که بسته‌بندی نانو اثر بیشتری در پیشگیری از کاهش وزن میوه داشت که می‌تواند به ایجاد مانع بهتر در مقابل مولکول آب نسبت داده شود (۹).

### کاهش وزن

اتلاف آب محصول و تنفس مهم‌ترین عوامل کاهش وزن محصولات کشاورزی در دوره پس از برداشت می‌باشند و به‌طور معمول میزان کاهش وزن با افزایش زمان نگهداری محصول افزایش می‌یابد. اتلاف آب محصول همچنین باعث تغییرات متابولیکی و فعال سازی آنزیم‌ها، تسریع پیری، کاهش عطر و طعم و بو، کاهش ارزش تغذیه‌ای، افزایش حساسیت به سرما زدگی و تهاجم پاتوژن‌ها به محصول می‌گردد (۱۹). در این پژوهش در همه تیمارها کاهش وزن



شکل ۲- اثر متقابل ظروف بسته‌بندی × زمان نگهداری بر میزان کاهش وزن میوه هلو رقم آلبرتا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می‌باشد

Figure 2- Interaction effect of packaging × storage time on weight loss of elberta peach

Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test

متقابل نوع ظرف و زمان نیز بر میزان اسیدهای قابل تیتراسیون معنی‌دار بوده است. تیمارهای به کار رفته موجب حفظ اسیدهای آلی در طی ۱۵ روز نگهداری گردیدند. کمترین میزان کاهش اسیدهای آلی در تیمارهای پلی پروپیلن و نانو نقره ثبت شد. به طور معمول اسیدهای آلی در اثر تنفس و یا تبدیل شدن به قندها کاهش می‌یابند و کاهش آن‌ها رابطه مستقیم با فعالیت‌های متابولیکی دارد. حفظ اسیدهای آلی در میوه‌ها نتیجه کاهش سرعت فرایندهای مربوط به رسیدن و پیری و کاهش تنفس و سایر فعالیت‌های متابولیکی است. همچنین می‌تواند به دلیل نفوذپذیری کم اکسیژن و ایجاد اتمسفر تغییر یافته و میزان تنفس کمتر و در نتیجه جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای آلی باشد (۲۶).

#### مواد جامد محلول

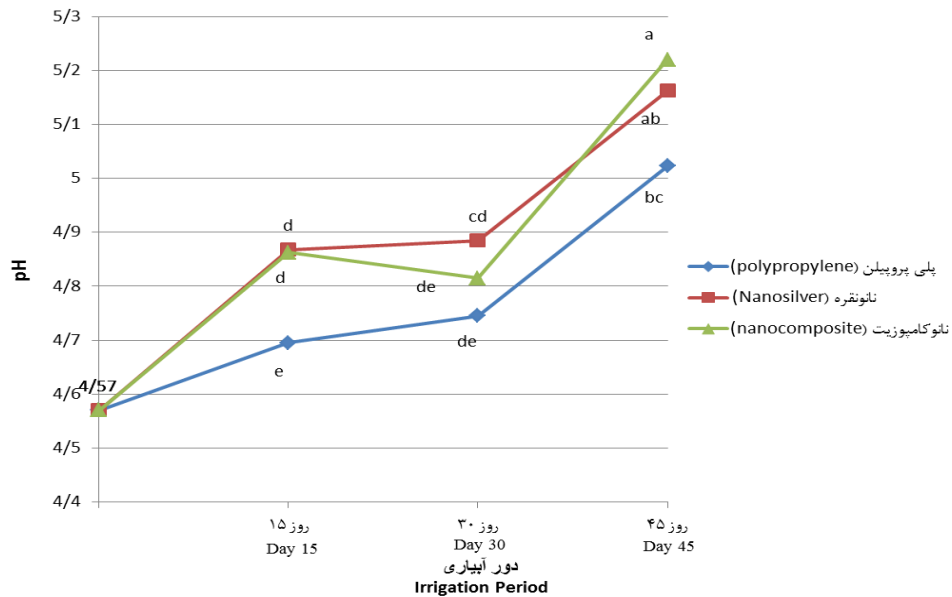
تفاوت معنی‌دار در میزان مواد جامد محلول بین میوه‌های تیمار شده با ظروف نانو و پلی پروپیلن مشاهده نشد. نتایج نشان داد که در هر سه تیمار میزان مواد جامد محلول تا روز ۱۵ روند افزایشی نشان داد که این روند افزایشی پس از پایان روز ۳۰، در تیمارهای نانو نقره و پلی پروپیلن متوقف و مواد جامد محلول حفظ گردید اما در تیمار نانو کامپوزیت کاهش نشان داد که این کاهش با نتایج کیوهوئی و همکاران (۲۲) بر روی نانو بسته‌بندی کیوی مشابه بود.

#### pH

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بین pH نمونه‌ها در ظروف بسته‌بندی مختلف و همچنین زمان نگهداری وجود دارد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش دوره نگهداری میزان pH محصول افزایش یافت. ظروف نانو و پلی پروپیلن تا ۳۰ روز نگهداری، میزان pH محصول را تا حدودی حفظ و از افزایش بیش از حد آن جلوگیری کردند. اما با افزایش زمان نگهداری از ۳۰ روز به ۴۵ روز میزان pH در تمام ظروف به شدت افزایش یافت. در اکثر میوه‌ها در طول مدت نگهداری pH میوه‌ها افزایش می‌یابد و این به دلیل کاهش اسیدهای آلی است (۲۱). افزایش قندها و کاهش اسیدها طی نگهداری در برخی از میوه‌ها منجر به افزایش pH می‌شود ولی این افزایش در اکثر میوه‌ها متفاوت می‌باشد، چون علاوه بر اسیدها سایر مواد موجود در میوه نظیر قندها نیز امکان تأثیر بر pH را دارند (۲۳). عواملی که منجر به کاهش تنفس و کاهش سرعت فرایندهای متابولیکی سلول می‌گردند، می‌توانند از کاهش اسیدهای آلی جلوگیری کرده و در بلند مدت باعث تجمع اسیدهای آلی و پایین ماندن pH عصاره‌ی میوه گردند (۱).

#### اسیدهای قابل تیتراسیون

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در بین ظروف مختلف و زمان‌های مختلف نگهداری وجود داشته و اثر

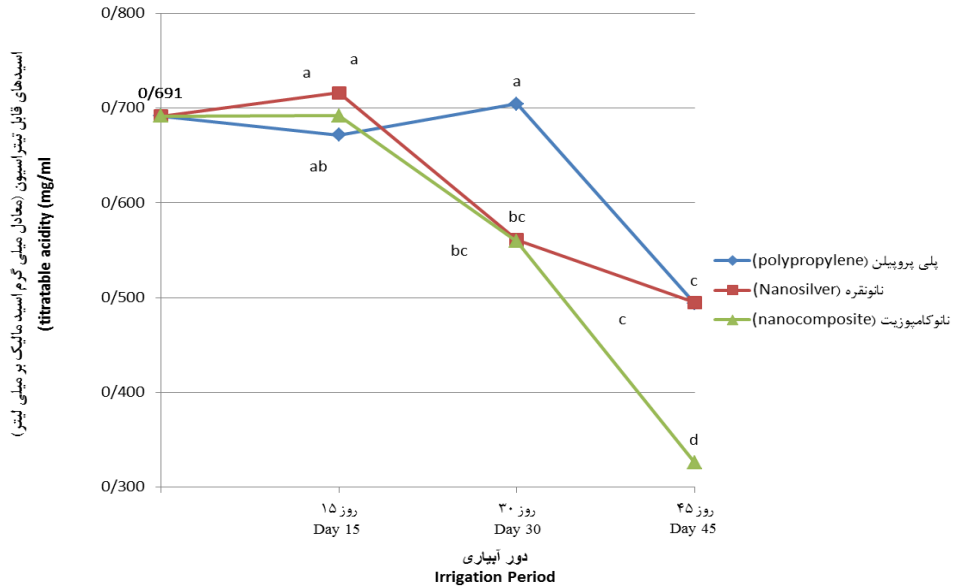


شکل ۳- اثر متقابل ظروف بسته بندی × زمان نگهداری بر میزان pH میوه هلو رقم آلبرتا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

Figure 3- Interaction effect of packaging × storage time on pH of elberta peach

Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test



شکل ۴- اثر متقابل ظروف بسته بندی × زمان نگهداری بر میزان اسیدهای قابل تیتراسیون میوه هلو رقم آلبرتا

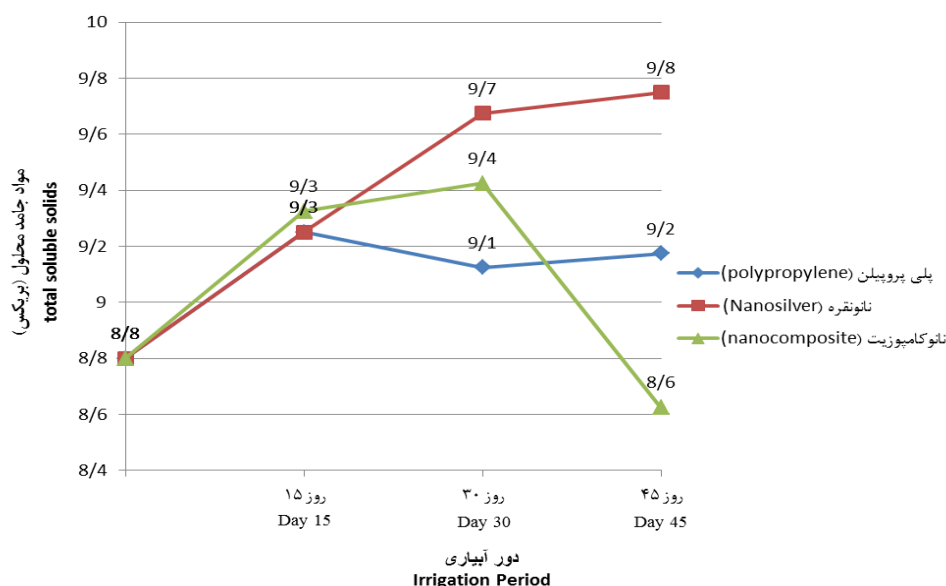
حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

Figure 4- Interaction effect of packaging × storage time on titratable acidity of elberta peach

Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test

نشان دهنده افزایش کند میزان مواد جامد محلول در انبه، موزهای تیمار شده با کیتوزان و افزایش سریع مواد جامد محلول در هلوهای تیمار شده می باشد (۱۳ و ۱۵).

افزایش مواد جامد محلول در نتیجه کاهش آب میوه و یا تجزیه قندهای مرکب به قندهای ساده در نتیجه پیشرفت پیری اتفاق می افتد. تیمارهایی که باعث کاهش تنفس و سرعت پیری می شوند از افزایش سریع مواد جامد محلول جلوگیری می کنند. گزارش های متعدد



شکل ۵- اثر متقابل ظروف بسته‌بندی × زمان نگهداری بر میزان مواد جامد محلول میوه هلو رقم آلبرتا  
Figure 5- Interaction effect of packaging × storage time on total soluble solids of elberta peach

پایین انبار باشد (۲۸). نتایج نشان داد که میزان آنتی‌اکسیدان کل در تمام تیمارها در پایان نگهداری تقریباً به میزان یکسانی کاهش یافت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی رابطه نزدیکی با ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و ویتامین‌ها دارد. البته مطابق بسیاری از پژوهش‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها بیشتر تحت تأثیر پلی‌فنل‌ها می‌باشد (۱۴). میتلر (۲۰) پیشنهاد کرده که کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها و میزان آسکوربات در طی پیری اغلب مربوط به کاهش توانایی مقابله با آسیب اکسیداتیو می‌باشد. تیمارهایی که باعث کاهش تنفس و تولید اتیلن و در نتیجه باعث کاهش سرعت پیری می‌شوند باعث کاهش سرعت تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها می‌گردند. طی ۱۵ روز نگهداری تمامی تیمارها دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بودند و ظروف نانو نقره بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان را نشان دادند. آنتی‌اکسیدان تمام تیمارها در روزهای سی‌ام و چهل و پنجم تقریباً مشابه بود که در روز چهل و پنجم میزان آنتی‌اکسیدان کل در تمامی تیمارها، کاهش نشان داد اما اختلاف معنی‌داری در بین ظروف مشاهده نشد.

#### فنل کل

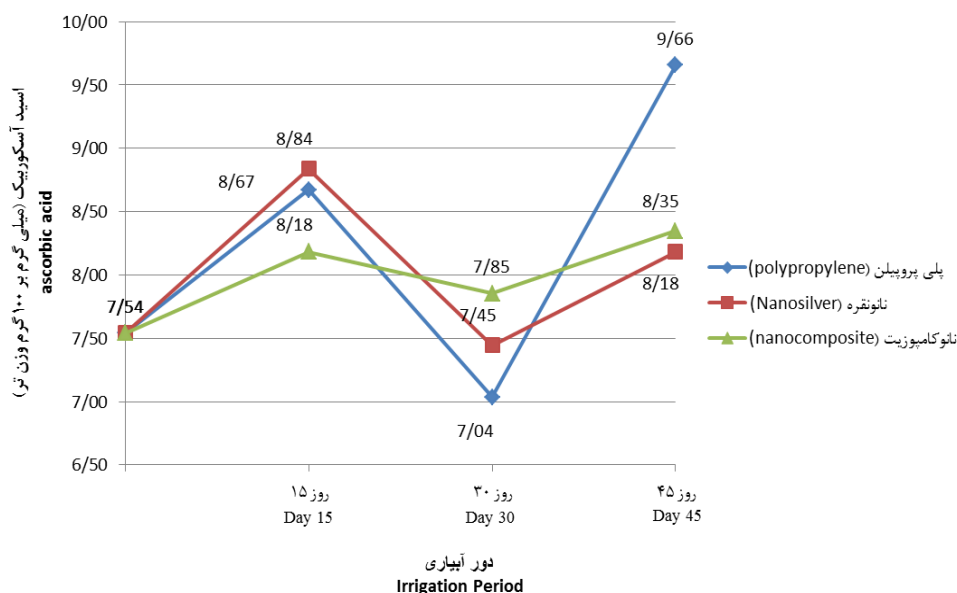
میزان فنل کل در ظروف نانو کامپوزیت تا روز سی‌ام نگهداری بالاتر از ظروف شاهد و نانو نقره بود در حالی که اختلاف معنی‌داری بین ظروف بسته‌بندی وجود نداشت. تنوع ترکیبات فنلی در میوه بستگی به عوامل بسیاری دارد و مشخص شده که میزان ترکیبات فنلی به‌طور معمول در روند توسعه رسیدن میوه‌ها کاهش می‌یابد.

#### اسید آسکوربیک

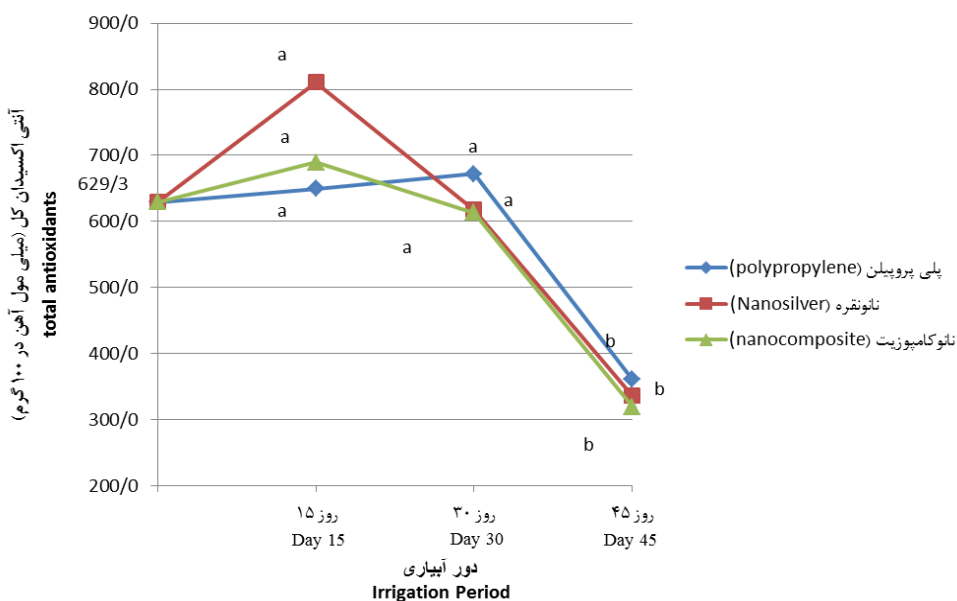
همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، ظروف نانو کامپوزیت بهترین عملکرد را در حفظ میزان اسید آسکوربیک و جلوگیری از تغییرات آن نشان دادند، این در حالی است که میزان اسید آسکوربیک در ظروف نانو نقره و پلی‌پروپیلن دامنه تغییرات زیادی داشت، اما بین تیمارها تفاوت معنی‌داری گزارش نشد. در طول دوره نگهداری میزان اسید آسکوربیک که یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم می‌باشد، کاهش می‌یابد که دلیل آن مصرف این ویتامین به عنوان دهنده الکترون به اکسیدان‌ها و کاهش متابولیسم اکسیداتیو است (۷). کاهش اسید آسکوربیک در نتیجه پیشرفت پیری و برای حذف رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد درحالی‌که حفظ آن نشان دهنده کاهش سرعت پیری است. نتایج نشان داد که استفاده از نانو بسته‌بندی اثر بهتری در حفظ میزان اسید آسکوربیک نسبت به ظروف معمولی داشت که با نتایج کیوهوئی و همکاران (۲۲) مطابقت دارد. محیط‌های دارای اکسیژن کم مانند ظروف بسته‌بندی می‌توانند با مهار اکسیداسیون از کاهش اسید آسکوربیک در طی نگهداری جلوگیری نمایند (۲۷).

#### آنتی‌اکسیدان کل

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها و سبزی‌ها به ترکیبات آنزیمی و غیر آنزیمی مانند ویتامین C، ترکیبات فنلی، کاروتنوئیدها و غیره مرتبط است (۲۶). آنتی‌اکسیدان‌ها، با تثبیت رادیکال‌های آزاد اثر می‌کنند. کاهش شدید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی پس از برداشت محصول ممکن است به دلیل استرس پس از برداشت میوه و یا دمای



شکل ۶- اثر متقابل ظروف بسته بندی × زمان نگهداری بر میزان اسید آسکوربیک میوه هلو رقم آلبرتا  
Figure 6- Interaction effect of packaging × storage time on ascorbic acid of elberta peach



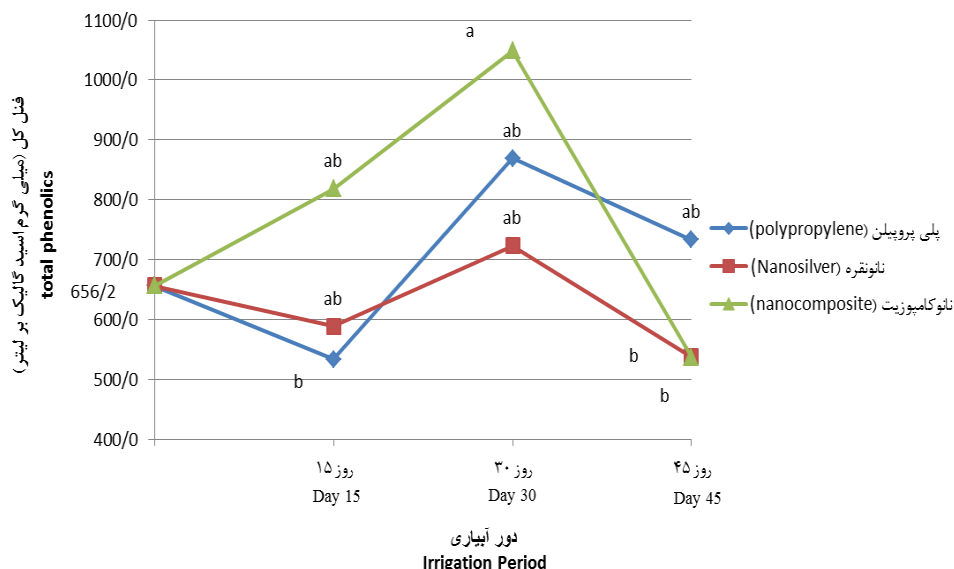
شکل ۷- اثر متقابل ظروف بسته بندی × زمان نگهداری بر میزان آنتی اکسیدان کل میوه هلو رقم آلبرتا  
حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد  
Figure 7- Interaction effect of packaging × storage time on total antioxidants of elberta peach  
Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test

مربوط به افزایش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز و پیشرفت پیری می باشد و با نتایج ژنگ و همکاران (۲۹) مطابقت داشت. در نتیجه فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، اکسیداسیون ترکیبات فنلیک صورت می پذیرد و محتوای فنلیک میوه ها به شدت کاهش می یابد. افزایش

بر اساس نتایج بدست آمده و شکل ۸، در روز سی ام در تمام تیمارها مقدار فنل ابتدا روند افزایشی داشته که در میوه های با رنگ قرمز این روند عادی است و با نتایج مارینووا و همکاران مطابقت دارد (۱۸) اما پس از آن در همه تیمارها با کاهش مواجه شده که عمدتاً



میزان فنل در روز سی ام را می توان به کاهش میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (۲۲) و استرس اکسیداتیو ناشی از غلظت بالای اکسیژن نسبت داد (۸).



شکل ۸- اثر متقابل ظروف بسته بندی × زمان نگهداری بر میزان فنل کل میوه هلو رقم آبرتا

حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد

Figure 8- Interaction effect of packaging × storage time on total phenolics of elberta peach  
Non-identical letters show a significant difference at 1% probability level using Duncan's multiple test

شفافیت، جریان خوب، خواص سطحی بهتر و قابلیت بازیافت هستند (۱۹). در نتیجه بکارگیری فناوری های نوین مانند بسته بندی نانو می تواند منجر به بهبود طعم، مزه، کیفیت خوراکی و انبارمانی محصولات کشاورزی به ویژه میوه ها و سبزی ها گردد.

## نتیجه گیری کلی

بسته بندی نانو باعث افزایش ماندگاری و خواص کیفی میوه هلو گردید. بسته بندی نانو دارای فرایند ساده و سریعی برای صنعتی شدن در مقایسه با دیگر روش های نگهداری محصولات غذایی دارا می باشد. علاوه بر آن نانو کامپوزیت ها دارای مزایایی مانند چگالی کم،

## منابع

- Asghari M.R. 2008. Determination of the effect of salicylic acid application in post-harvest stage on quality properties, decay index and storage life in some cultivars of apple, pear and grapes. Final report of the research project. (in Persian)
- Asghari, M.R., Hajitagilo, R., & Jalilimarandi, R. 2009. Postharvest application of salicylic acid before coating with chitosan affects the pattern of quality changes in table grape during cold storage. In 6th *International Postharvest Symposium*, Antalya, Turkey, 8-12.
- Ayala-Zavala J.F., Wang S.Y., Wang C.Y., and Gonzalez-Aguilar G.A. 2004. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT - Food Science and Technology*. 37: 687-695.
- Benzie I.F.F., and Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'Antioxidant Power': The FRAP assay. *Annual Biochemistry*. 239: 70-76.
- Binesh M., Mortazavi S., Armin M., and Moradi. M. 2010. Evaluate the effect of silver and titanium dioxide nanocomposite on packaging used for holding Mazafati date on its microbial changes during storage life. *Journal of Food Science and Technology*. second year. 1: 1-8. (in Persian).
- Emamifar A., Kadivar M., shahedi M., and Soleymanianzad S. 2011. Evaluation of the effect of silver and zinc oxide nanocomposite containing on the storage life of fresh orange juice. *Iranian Journal of Nutrition and Food Technology*. Sixth year. 1: 57-67. (in Persian)

- 7- Esteve M.J., Farre R., and Frígola A. 1995. Changes in ascorbic acid content of green asparagus during the harvesting period and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 2058-2061.
- 8- González-Roncero, M.I., B.P.F. Day, 1998. The effect of elevated oxygen and carbon dioxide modified atmosphere on psychrotropic pathogens and spoilage microorganisms associated with fresh prepared produce. *CCFRA Research Summary Sheet 98*, CCFRA, Chipping Campden, UK.
- 9- Hongmei Li, Feng Li, Lin Wang, Jianchun Sheng, Zhihong Xin, Liyan Zhao, Hongmei Xiao, Yonghua Zheng and Qiuhui Hu. 2009. Effect of nanopacking on preservation quality of Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. inermis (Bunge) Rehd). *Food Chemistry*. 114: 547-552.
- 10- Jalilimarandi R. 2007. Pomology. Urmia University Jihad Publications. (in Persian)
- 11- Jasso de Rodríguez D., Hernandez-Castillo D., Rodríguez-García R., and Angulo-Sánchez J.L. 2005. Antifungal activity in vitro of *Aloe vera* pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. *Industrial Crop Production*. 21: 81-87.
- 12- Kader A.A., and Mitchell F.G. 1998. Postharvest physiology. In: La Rue, J.H. and Johnson, R.S. (eds) Peaches, plums nectarines: growing and handling for market. University of California, *Division of Agriculture and Natural Resources*, 3331: 154-164.
- 13- Kittur F., Saroja N., Habibunnisa and Tharanathan R. 2001. Polysachharide based composite coating formulations for shelf life extension of fresh banana and mango. *European Food Reserch and Technology*. 206: 44-47.
- 14- Leja M., Mareczek A., and Ben J. 2003. Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry*. 80: 303-307.
- 15- Li H., and Yu T. 2001. Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of Science Food Agriculture*, 81: 269-274.
- 16- Ling Zhou, Sining Lv, Guiping He, Qiang He, and Bi Shi. 2011. Effect of PE/Ag<sub>2</sub>O nanopackaging on the quality of apple slices. *Journal of Food Quality*, 34: 171-176.
- 17- Manning K. (1993) Soft fruits In: Taylor JE, Tucker GA, eds. Biochemistry of fruit ripening. Cambridge, UK: Chapman and Hall, 347-373.
- 18- Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*. 40: 255-260.
- 19- Milda E. E., Kerry C.H. 2009. Edible Films and Coatings for Food Applications. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- 20- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*. 7: 405-410.
- 21- Perkins-Vaezie P. 2007. Blueberry fruit response to postharvest application of ultraviolet radiation. *Postharvest biology, Technology*. 10: 1005-1016.
- 22- Qiuhui Hu, Yong Fang, Yanting Yang, Ning Ma and Liyan Zhao. 2011. Effect of nanocomposite-based packaging on postharvest quality of ethylene-treated kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) during cold storage. *Food Research International*. 44: 1589-1596.
- 23- Raskin I, 1992. Salicylic, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99: 799-803.
- 24- Valipur Motlaq N., Mosavian H., and Mousavian H. And Mortazavi S. 2008. Effect of packages containing silver nanoparticles on the microbial and apparent properties of barberry compared to conventional polyethylene packages. *Journal of Iranian Food Industry Researches*. Vol. 5. 2: 75-87. (in Persian)
- 25- Waterhouse A.L. 2002. Determination of total phenolics. In: Wrolstad, R.E. (ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and Sons, New York. 1: 1.1.1-1.1.8.
- 26- Yaman O., and Bayoindirli L. 2002. Effects of an edible coating and cold storage on shelf life and quality of cherries. *Lebensmittel- Wissenschaft and Technologie*. 35: 146-150.
- 27- Zagory D., and Kader A.A. 1989. Quality maintenance in fresh fruits and vegetables by controlled atmospheres, p. 174-188, In: J.J. Jen (ed), *Quality Factors of Fruits and Vegetables-Chemistry and Technology*. American Chemical Society, Washington, D.C.
- 28- Zandi k., Naseri N., Weisany W., Esmaili M., and Bazargan I. 2012. Effects of nano-composites packaging and calcium chloride containers on quality characteristics and storage life of Siah Mashhad cherry cultivar. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*. 10: 346-353.
- 29- Zheng Y., Wang S.Y., Wang C.Y., and Zheng W. 2007. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. *LWT. Society of Food Science and Technology*. 40: 49-57.



## Effect of Nano Packaging on Storage Life and Quality Attributes of Elberta Peach

M.R. Asghari<sup>1</sup> - M. Tohidian<sup>2\*</sup>

Received: 29-12-2013

Accepted: 27-02-2016

**Introduction:** As a climacteric fruit, peach has a high respiration rate and very low shelf life. Nowadays these of appropriate postharvest technologies to increase fruit postharvest life is necessary. Use of nanotechnology is considered as an effective method to increase fruit postharvest life. Nanotechnology is used extensively in all stages of production, processing, storage, packaging and transport of agricultural products. The objective of this study was to investigate the effect of silver and silica nanocomposites, nanosilver and polypropylene containers on shelf-life and preservation of peach qualitative characteristics (*Prunus persica* cv. Elberta) such as titrable acidity, soluble solids, ascorbic acid, total antioxidant and total phenolics content in cold storage after the harvest.

**Materials and Methods:** To determine the effect of nanopackaging on shelf life and qualitative characteristics of Elberta peaches, the experiment was conducted in a factorial based on a completely randomized design with two treatments and four replications. The first factor consisted of nanopackaging nanosilver, silver and silica nanocomposites and polypropylene packaging, and the second factor was cold storage periods of 15, 30 and 45 days at temperatures from 0 to 5 °C and a relative humidity of 85 to 95%. In general, the experiment consisted of 36 experimental units, and each including a container with four Elberta peach fruits. Data were analyzed by using SAS software, and Microsoft Office Excel 2010 software was used to plot the graphs. Duncan's multiple range test was used to compare the means of treatments.

**Results and Discussion:** At the end of the maintenance period, the highest firmness of peach texture was related to nanosilver containers. The main cause of fruit softening is the destruction of cell wall components, especially pectin, which is caused by certain enzymes such as polygalacturonase. When storage time increased, polypropylene containers showed a higher weight loss compared to nanocomposite containers, thus the results indicated that nanopackaging had a greater effect on preventing weight loss, which could be attributed to the formation of better barrier against water molecules. Nanoparticles and polypropylene containers up to 30-day storage period preserved the pH of the product to some extent and prevented it from increasing too much. However, with an increase in storage time from 30 to 45 days, the pH of all dishes showed a sharp increase. In most treatments, fruits grew during the maintenance period, which is due to the reduction of organic acids. The lowest levels of organic acids reduction were recorded in polypropylene and nanosilver treatments. Generally, organic acids decreased as a result of respiration or becoming sugars, which can be directly related to metabolic activity. Maintaining organic acids in fruits is the result of a slowdown in the processes of ripening and aging and reduction in respiration and other metabolic activities. The results showed that in all the three treatments, the amount of soluble solids up to 15-day period showed an increasing trend, and after the end of day 30, it stopped in nanosilver and polypropylene treatments, and soluble solids were retained but reduced in nanocomposite treatment showed that this decrease. Nanocomposite containers exhibited the best performance in maintaining ascorbic acid content and preventing its changes, while ascorbic acid content in nanosilver and polypropylene containers varied greatly, though there were no significant differences among the treatments. Low oxygen environments, such as packaging containers, can inhibit ascorbic acid changes during maintenance by inhibiting oxidation. The results showed that total antioxidant level was almost identical in all treatments at the end of maintenance. Antioxidant activity has a close relationship with phenolic compounds, flavonoids and vitamins. The antioxidant capacity of fruits and vegetables is related to enzymatic and non-enzymatic compounds such as vitamin C, phenolic compounds, and carotenoids. Treatments reducing respiration and producing ethylene can reduce the rate of aging, the rate of free radical production and the consumption of antioxidants. Based on the results, on the day 30 in all treatments, the amount of phenolic compounds initially increased, which is normal in red fruits, but afterwards decreased in all treatments mainly due to the increased activity of the polyphenol oxidase enzyme and the progression of aging. Increasing the amount of phenol on the day 30 can be attributed to decreased activity of the polyphenol oxidase enzyme and the oxidative stress associated with high concentrations of oxygen.

1 and 2- Associate Professor and M. Sc. Student of Pomology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

(\* - Corresponding Author Email: m.tohidian7008@yahoo.com)

**Conclusion:** Nanopackaging increased the shelf life and qualitative properties of peach fruit. Nanotechnology has a simple and fast process for industrialization compared to other methods of keeping food products. As a result, the use of modern technologies such as nanopackaging can improve the taste, favor, quality of food and the storage of crops, especially fruits and vegetables.

**Keywords:** Ascorbic acid, Nanocomposite, Nanosilver, Total of antioxidant, Totalphenolics.



## ارزیابی اثر بیوفسفر و اسیدهیومیک بر برخی خصوصیات رشدی و میزان روغن بذر گل مغربی

زینب آقاخانی\*<sup>۱</sup> - مجید عزیزی<sup>۲</sup> - حسین آرویی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۹

### چکیده

به منظور بررسی اثر بیوفسفر و سطوح مختلف اسید هیومیک بر برخی خصوصیات کمی و کیفی گل مغربیازمایشیبه صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۸ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه آموزشی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۴ سطح اسید هیومیک (صفر، ۱، ۳ و ۵ میلی‌لیتر در لیتر) و دو سطح بیوفسفر (کاربرد و عدم کاربرد) بودند. نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین ارتفاع گیاه (۸۵/۵۹ سانتیمتر)، تعداد بذر کپسول‌های ساقه اصلی (۲۵۱/۱۷) و درصد روغن (۲۱/۷۵ درصد) در اثر متقابل بین سطح ۵ میلی‌لیتر بر لیتر و بدون کاربرد بیوفسفر و عملکرد بذر (۱۰۸۰ کیلوگرم در هکتار) و عملکرد روغن (۲۲۷ کیلوگرم در هکتار) در اثر متقابل بین سطح ۳ میلی‌لیتر بر لیتر و بدون کاربرد بیوفسفر به دست آمد. اثر ساده اسید هیومیک نیز بر بهبود برخی از صفات گل مغربی اثر معنی داری داشت، به طوری که بیشترین میزان تعداد شاخه جانبی (۲۶/۸) و تعداد کپسول ساقه اصلی (۱۱۷/۳۵) در سطح ۵ میلی‌لیتر بر لیتر با تیمار اسید هیومیک به دست آمد. بیوفسفر نیز بر افزایش تعداد شاخه جانبی تاثیر معنی داری داشت. استفاده از این کود به تنهایی و بدون کاربرد اسید هیومیک بالاترین میزان کپسول شاخه‌های جانبی را تولید کرد. کاربرد بیوفسفر بر درصد روغن افزایش معنی داری نداشت و عملکرد روغن با کاربرد این کود در سطح صفر و ۱ اسیدهیومیک نسبت به شاهد کاهش یافت و در سطح ۳ و ۵ میلی‌لیتر در لیتر اسید هیومیک تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نداشت. از میان سطوح مختلف اسید هیومیک سطح ۳ و ۵ میلی‌لیتر در لیتر نتایج بهتری بر روی صفات اندازه گیری شده داشتند و به جز درصد و عملکرد روغن در اثر متقابل با بیوفسفر دارای اثرات بهتری بودند.

**واژه‌های کلیدی:** باکتری‌های حل کننده فسفات، عملکرد، کشت ارگانیک، کودهای آلی، گیاه دارویی

### مقدمه

گل مغربی گیاهی علفی، دوساله و متعلق به تیره گل مغربی است. منشأ آن شمال آمریکا گزارش شده است. دارای گل‌های زرد روشن است و علت نامگذاری آن به این دلیل است که گل‌های آن در زمان غروب آفتاب باز می‌شود (۳۳ و ۴۳). این گیاه دارای بذرهای غنی از روغن است که به عنوان مکمل غذایی و دارویی استفاده می‌شود. میزان روغن بذر ۲۰ تا ۳۰ درصد بوده که شامل ۷۰ درصد لینولئیک اسید (LA) و ۱۰ درصد گامالینولئیک اسید (GLA) می‌باشد (۱۶ و ۴۳). با وجود سطوح بالای GLA در بذرهای گیاهانی مثل Black currant و گاوزبان، روغن گل مغربیدر درمان بیماری‌ها فعالیت بیولوژیکی بالاتری از خود نشان می‌دهد (۱۶). مواد موثره موجود در

این گیاه در درمان بیماری‌هایی همچون نارسایی‌های قلب و عروق، حساسیت‌های پوستی، بیماری‌های دیابتی، سرطان و ... کاربرد دارد (۱۵ و ۳۳).

با توجه به گستردگی اراضی دارای بافت سبک در کشور و مشکلات ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی و خسارات جبران ناپذیر آن برای محیط زیست و انسان، لزوم اصلاح و بهبود حاصلخیزی این اراضی مهم است. این اراضی عمدتاً به دلیل پایین بودن قابلیت تبادل کاتیونی و کمبود مواد آلی از نظر تامین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان دچار مشکلات عدیده‌ای هستند. روش‌های مختلفی برای اصلاح این اراضی به کار می‌رود که از جمله آنها استفاده از کودهای بیولوژیک و اسید هیومیک را می‌توان نام برد (۲۹). مواد هیومیکی از تغییر شکل ضایعات گیاهی و حیوانی در خاک و یا هوموس به دست می‌آیند. این مواد هر چند عمدتاً از بازمانده‌های گیاهی منشأ می‌گیرند ولی از نظر ویژگی‌های ساختمانی و مکانیسم اثر آنها در خاک شباهتی به اجزاء بافتهای گیاهی ندارند. این مواد اثرات شبه هورمونی نظیر تاثیرات شبه اکسینی و شبه سیتوکینینی بر رشد گیاه دارند (۱۱). در گل همیشه بهار تیمار اسید هیومیک با

۱، ۲ و ۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(\*- نویسنده مسئول: (Email: zeinab.aghakhani@mail.ac.ir)

4- *Oenotherabiennis* L.

DOI:10.22067/jhorts4.v0i0.37779

و عملکرد روغن گل مغربی مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف اسید هیومیک و بیوفسفر بر رشد و عملکرد گل مغربی آزمایشی در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه آموزشی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت فاکتوریلدر قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۸ ترکیب تیماری و ۳ تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید هیومیک در ۴ سطح (صفر، ۱، ۳ و ۵ میلی‌لیتر بر لیتر) و بیوفسفر در دو سطح (کاربرد به صورت ۵۰ گرم در متر مربع و عدم کاربرد) بودند. گیاهان مورد استفاده از بذرهای پراکنده شده از گیاهان سال قبل موجود در مزرعه انتخاب شدند که به صورت روزت رشد کرده بودند. روزت‌های مورد استفاده دارای اندازه یکسان بودند و در اسفند ماه ۹۱ به گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند تا برای انتقال به زمین شرایط بهتری داشته باشند. در فروردین ۹۲ گیاهان به زمین اصلی منتقل شدند. در هر کرت ۱۵ گیاه با فواصل ۲۰×۳۰ در سه ردیف کشت شد و تیمارها پس از به ساقه رفتن گیاه اعمال شد. بیوفسفر از شرکت فرآوری شیمیایی زنجان، شامل باکتری‌های حل کننده فسفر با تعداد اسپور در هر میلی‌لیتر  $10^8$  Cfu بود. سلول زنده از هر یک از باکتری‌ها در هر میلی‌لیتر (این کود به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به صورت سرک به زمین داده شد. اسید هیومیک با نام تجاری سوپر هیومیکه صورت محلول پاشی برگی قبل از به گل رفتن گیاه و سه بار به فاصله هر ۱۰ روز یکبار اعمال شد. آبیاری به صورت غرقابی و هر ۵-۴ روز یک بار انجام شد. ارتفاع گیاه هم‌زمان با ظهور اولین گل‌ها در بوته‌ها اندازه‌گیری شد. تعداد کپسول‌های ساقه اصلی بعد از جمع‌آوری کل کپسول‌ها شمارش شد. بعد از تغییر رنگ ۷۵ درصد کپسول برای جلوگیری از باز شدن آن و ریزش بذرهای کپسول‌ها از اوایل مرداد تا اواسط شهریور به صورت تدریجی برداشت شدند. سطح برداشت ۲۴ متر مربع بود. استخراج روغن با استفاده از سوکسله cc ۳۰ انجام گردید. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام شد.

سطوح (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) روی خصوصیات اندازه‌گیری شده مانند تعداد گل در هر گیاه، تعداد شاخه و وزن خشک و تر گل‌ها اثر قابل توجهی داشت (۲۷). بفروزفر و همکاران (۹) نشان دادند اثر متقابل اسیدهیومیک و باکتری‌های محرک رشد گیاه منجر به افزایش میزان اسانس، افزایش عملکرد اسانس و افزایش ارتفاع گیاه در ریحان می‌شود. در مطالعه ای روی گوجه فرنگی مشخص شد، غلظت ۳ میلی گرم بر لیتر اسیدهیومیک که به صورت محلول پاشی برگی در چهار زمان در طول دوره رویشی به فاصله ۱۰ روز روی گیاه اعمال گردید، موجب افزایش عملکرد، تعداد میوه، ارتفاع و شاخص کلروفیل شد (۲۳).

افزایش اهمیت باکتری‌های مفید در کشاورزی باعث شده این باکتری‌ها در آزمایشات زیادی شناسایی و جداسازی شده و ارتباط آنها با ریزوسفر گیاه برای یافتن نقش آنها در افزایش رشد گیاه بررسی شود (۲۲). باکتری‌های حل کننده فسفات از ۱۹۵۰ میلادی به عنوان کودهای بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این میکروارگانیسم‌ها انواع مختلفی از اسیدهای ارگانیک را ترشح می‌کنند که باعث کاهش pH خاک و سپس تجزیه فسفر باند شده در خاک می‌شود (۲). زارع و همکاران (۴۸) در آزمایشی روی سیاهدانه بیان نمودند بیوفسفر به همراه کودهای بیولوژیک دیگر مانند بیوسولفور و... بر ارتفاع بوته، تعداد کپسول در بوته، تعداد دانه در بوته، عملکرد دانه، تعداد گل در بوته و عملکرد بیولوژیک تاثیر معنی‌داری داشت. ولی بر تعداد بذر در کپسول، وزن هزار دانه و شاخص برداشت تاثیر معنی‌داری مشاهده نگردید. در مطالعه ای بر روی گیاه دارویی گلرنگ که از کودهای بیولوژیک استفاده شده بود مشخص شد، بالاترین میزان وزن هزاردانه، عملکرد بیولوژیک، درصد روغن و عملکرد روغن در تیمار کودهای بیولوژیک به دست آمد (۳۶). کاربرد کودهای بیولوژیک از جمله باکتری‌های حل کننده فسفر در گیاه زوفا منجر به افزایش ارتفاع و قطر بوته، وزن تر و خشک بوته و عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد (۲۶). بالاترین میزان عملکرد رویشی در گیاه استویا با تیمار کودهای بیولوژیک از جمله باکتری‌های حل کننده فسفر ثبت شد (۱۲). با توجه به تحقیقات انجام شده و اهمیت کاربرد کودهای بیولوژیک در تحقیق حاضر غلظت‌های مختلف اسید هیومیک به صورت محلول پاشی و کاربرد بیوفسفر بر خصوصیات رویشی و میزان

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Physical and chemical properties of farm soil

| بافت خاک<br>Soil texture | شن<br>Sand (%) | رس<br>Clay (%) | سیلت<br>Silt (%) | هدایت الکتریکی<br>EC (ds/m) | اسیدیته خاک<br>pH | نیترژن<br>N (%) | فسفر<br>P (mg/kg) | پتاسیم<br>K (mg/kg) |
|--------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|---------------------|
| لوم شنی<br>Sandy loam    | 57             | 17             | 26               | 1.37                        | 7                 | 0.16            | 15.9              | 534                 |

## نتایج

### ارتفاع گیاه

کند، چون سبب افزایش هورمون‌های رشد (اکسین، جیبرلین و ...) شده و در نتیجه موجب افزایش طول ساقه و بهبود رشد گیاه می‌شود (۲۳). از آنجایی که باکتری‌های موجود در کودهای بیولوژیک باعث افزایش ارتفاع گیاه شده اند و با توجه به این که رطوبت در دسترس گیاه نقش مهمی در رشد آن دارد می‌توان گفت این باکتریها رشد ریشه و میزان آب قابل جذب گیاه را افزایش داده و باعث بهبود رشد شده اند (۴۰). در تیمار اسیدهیومیک به علاوه کودهای زیستی روی ریحان مشخص شد بالاترین ارتفاع در ترکیب این دو کود آلی به دست آمد که نشان می‌دهد اسید هیومیک شرایط مطلوبی را برای فعالیت باکتری‌ها فراهم می‌کند (۹).

نتایج این آزمایش نشان داد اثر متقابل اسید هیومیک و بیوفسفر تاثیر معنی داری بر ارتفاع گیاه گل مغربی داشت. به طوری که بالاترین میزان ارتفاع در سطوح ۳ و ۵ میلی‌لیتر بر لیتر اسید هیومیک و اثر متقابل بیوفسفر و اسیدهیومیک در همین سطوح به دست آمد که با یکدیگر تفاوت معنی داری نشان ندادند. کمترین ارتفاع نیز در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۴). نتایج علی و حسن (۵) روی سیاهدانه، اسماعیل و همکاران (۲۰) روی ماریتغال و جین و همکاران (۲۲) روی فلفل نیز حاکی از اثر مثبت اسید هیومیک و بیوفسفر بر ارتفاع گیاه بود. اسیدهیومیک در گیاه مانند یک تنظیم کننده رشد عمل می‌کند.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر بیوفسفر و اسیدهیومیک بر برخی صفات گل مغربی

Table 2 – ANOVA of the bio-phosphor and humic acid effect on some Evening Primrose characteristics

| منابع تغییرات<br>S.O.V                               | درجه<br>آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>Mean Square |  |  |  |                                     |  |  |
|--|---------------------|-------------------------------|--|--|--|-------------------------------------|--|--|
|  |                     | ارتفاع<br>Height<br>(cm)      | تعداد شاخه<br>جانبی<br>Number<br>of branches | تعداد کپسول<br>ساقه اصلی<br>Number of<br>capsules in<br>peduncle | تعداد بذر کپسول<br>ساقه اصلی<br>Seed per<br>capsule in<br>peduncle | عملکرد بذر<br>Seed yield<br>(Kg/Ha) | میزان<br>روغن<br>Oil<br>contrnt<br>(%) | عملکرد<br>روغن<br>Oil yield<br>(Kg/Ha) |
| بلوک<br>Block  | 2                   | 3.95 <sup>ns</sup>            | 1.91 <sup>ns</sup>                           | 34.80 <sup>ns</sup>  | 12.91 <sup>ns</sup>  | 336.37 <sup>ns</sup>                | 0.32 <sup>ns</sup>                     | 56.13 <sup>ns</sup>                    |
| بیوفسفر<br>Bio-phosphor                              | 1                   | 15.19 <sup>ns</sup>           | 17.63 <sup>*</sup>                           | 29.66 <sup>ns</sup>  | 49.77 <sup>*</sup>   | 47318.87 <sup>**</sup>              | 38.76 <sup>**</sup>                    | 10962.71 <sup>**</sup>                 |
| اسیدهیومیک<br>Humic acid                             | 3                   | 188.73 <sup>**</sup>          | 18.17 <sup>**</sup>                          | 91.74 <sup>**</sup>  | 601.55 <sup>**</sup>   | 18034.02 <sup>**</sup>              | 4.71 <sup>**</sup>                     | 2547.84 <sup>**</sup>                  |
| بیوفسفر × اسیدهیومیک<br>Bio-phosphor ×<br>Humic acid | 3                   | 30.20 <sup>*</sup>            | 4.42 <sup>ns</sup>                           | 33.11 <sup>ns</sup>  | 499.37 <sup>**</sup>   | 15277.85 <sup>**</sup>              | 8.68 <sup>**</sup>                     | 603.34 <sup>**</sup>                   |
| خطای آزمایش<br>Error                                 | 14                  | 7.04                          | 2.06   | 13.74  | 5.78   | 666.27                              | 0.72                                   | 107.73                                 |
| ضریب تغییرات (%)<br>CV                               | -                   | 9.35                          | 5.87   | 3.32   | 10.38  | 7.58                                | 4.41                                   | 5.4                                    |

\* و \*\* به ترتیب سطوح معنی‌داری ۵ و ۱ درصد<sup>ns</sup> عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد

<sup>\*</sup>, <sup>\*\*</sup> and <sup>ns</sup>, significant at the levels of  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  and not significantly, respectively

### تعداد شاخه جانبی

بر رشد گیاهان تایید می‌کند (۱۳، ۱۵، ۱۷، ۲۴، ۳۸ و ۴۶). افزایش تعداد ساقه فرعی به وسیله بیوفسفر را می‌توان به دلیل اثر غیر همزیستی باکتری‌های حل کننده فسفات در افزایش رشد گیاه از طریق سنتز فیتوهورمون‌ها، کاهش پتانسیل غشاء ریشه، سنتز بعضی آنزیم‌ها (مثل ACC دی آمیناز) دانست که باعث تعدیل میزان هورمون‌ها در گیاه و همچنین تبدیل فسفات معدنی به فسفر آلی و در نهایت باعث جذب بیشتر فسفر توسط گیاه می‌شوند (۵). اسیدهیومیک نیز باعث افزایش کلروفیل، افزایش سرعت تنفس گیاه و واکنش‌های هورمونی

با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر متقابل تیمار اسیدهیومیک و بیوفسفر در این صفت معنی دار نشد ولی اثر ساده تیمارها معنی دار شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد اثر ساده بیوفسفر و سطوح مختلف اسیدهیومیک هر دو باعث افزایش تعداد شاخه جانبی در گل مغربی شدند. همچنین مشاهده شد سطح ۵ میلی‌لیتر بر لیتر اسیدهیومیک بالاترین میزان شاخه جانبی را دارا بود (جدول ۳). مطالعات زیادی اثر مثبت اسید هیومیک و بیوفسفر را



رشد، افزایش نفوذپذیری غشاء و ... می شود و بدین صورت به بهبودرشد گیاه کمک می کند (۴).

جدول ۳- اثر ساده بیوفسفر و اسیدهیومیک بر میانگین تعداد شاخه جانبی گل مغربی  
Table 3 - Effect of bio-phosphor and humic acid on average number of branches of Evening Primrose

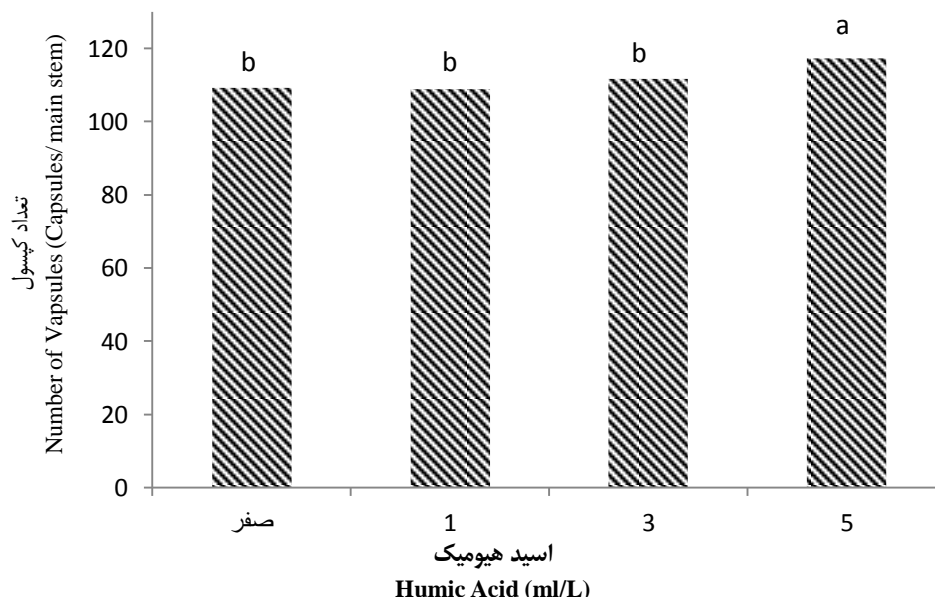
| تیمار<br>Treatment                 | سطوح<br>Levels                       | تعداد شاخه جانبی<br>Number of branches |
|------------------------------------|--------------------------------------|--|
| بیوفسفر<br>Bio-phosphor            | بدون بیوفسفر<br>Without bio-phosphre | 23.59 b                                |
|                                    | کاربرد بیوفسفر<br>With pio-phosphor  | 25.3a                                  |
| اسیدهیومیک<br>Humic acid<br>(ml/l) | 0                                    | 24.73 b                                |
|                                    | 1                                    | 23.06 b                                |
|                                    | 3                                    | 23.19 b                                |
|                                    | 5                                    | 26.8 a                                 |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) با استفاده از آزمون LSD نمی باشند  
Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ) based on LSD

و ۳ میلی لیتر بر لیتر نسبت به شاهد معنی دار نبودند. نتایج کمتری شاهملکی و همکاران (۲۳)، صادقی مقدم و همکاران (۳۹) و محمدی پور و همکاران (۲۸) تایید می کنند که اسیدهیومیک باعث افزایش تعداد میوه در گیاه می شود. اسیدهیومیک به علت جذب بیشتر مواد غذایی باعث افزایش رشد رویشی و افزایش عملکرد ساقه می شود که این افزایش بر تعداد گل و میوه تاثیر مثبت دارد و باعث تولید بیشتر میوه در گیاه می شود (۲۳ و ۲۷).

### تعداد کپسول ساقه اصلی

اثر ساده بیوفسفر و اثر متقابل سطوح مختلف اسید هیومیک و بیوفسفر با توجه به جدول تجزیه واریانس در این صفت معنی دار نشدند و تنها اثر ساده اسید هیومیک اثر معنی داری داشت که با توجه به شکل ۲ مشاهده شد که سطح ۵ میلی لیتر بر لیتر اسیدهیومیک تاثیر معنی داری نسبت به شاهد و دوسطح دیگر داشته و بالاترین تعداد کپسول ساقه اصلی (۱۱۷/۳۵) در این سطح مشاهده شد. سطوح



شکل ۱- اثر اسیدهیومیک بر میانگین تعداد کپسولهای ساقه اصلی گل مغربی

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد است

Figure 1- Effect of humic acid on average number of main stem capsules of Evening Primrose  
Mean followed by similar letters are not significantly different based on LSD test at 5% probability level

### تعداد بذر کپسول ساقه اصلی

نتایج نشان داد بالاترین تعداد بذر در کپسول‌های ساقه اصلی (۲۵۱/۱۷) در سطح ۵ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک بدون استفاده از بیوفسفر بدست آمد و پایین ترین تعداد بذر (۲۰۷/۴۲) در تیمار شاهد مشاهده شد. استفاده از بیوفسفر به طور کلی باعث افزایش تعداد بذر نسبت به شاهد شد. اما بین سطوح مختلف اسید هیومیک همراه با بیوفسفر و همچنین استفاده به تنهایی از آن تفاوت معنی داری نبود (جدول ۴). شتهاتا و ال خواص (۴۴) نشان دادند تاثیر کودهای بیولوژیک بر آفتابگردان باعث افزایش تعداد بذر نسبت به شاهد شد. کایا و همکاران (۲۴) نشان دادند تیمار پیش کاشت Zn روی بذر همراه با محلول پاشی اسید هیومیک باعث بهبود تعداد بذر در لوبیا شد. افزایش تعداد بذر با محلول پاشی اسید هیومیک می تواند به این علت باشد که این ماده با جذب عناصر غذایی، تحریک یا بازدارندگی فعالیت آنزیم ها، سنتز پروتئین ها و همکاری در ذخیره آب توسط گیاهی می تواند رشد آن را بهبود بخشد (۱۳).

### میزان روغن

با توجه به جدول ۴ نتایج نشان می دهد بالاترین میزان روغن گل مغربی در سه سطح اسید هیومیک بدون استفاده از بیوفسفر بود، اما بین سطوح تفاوت معنی داری مشاهده نشد. استفاده از بیوفسفر به طور کلی اثر معنی داری بر میزان روغن نداشت، اگرچه در اثر متقابل با سطح ۳ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک نسبت به سطح صفر افزایش معنی داری داشت. در مطالعه ای روی گیاه مرزنجوش مشخص شد پتاسیم هیومات اثر معنی داری بر افزایش اسانس این گیاه شد به طوری که بالاترین درصد اسانس در محلول پاشی ۱ درصد پتاسیم هیومات با دوره آبیاری ۵ روزه و میزان نیتروژن ۱/۲ گرم/گیاه بود (۴۱). با توجه به اینکه میزان روغن بذر با طولانی تر شدن فصل رشد و خنک شدن دمای هوا طی مرحله پر شدن دانه افزایش می یابد تامین عناصر مورد نیاز از طریق کودها با بهبود عملکرد بذر تاثیر مستقیمی بر افزایش روغن دارد (۴۶). می توان گفت که محلول پاشی برگی اسید هیومیک رشد را تحریک کرده و باعث افزایش میزان روغن در گل مغربی می شود. نتایج استفاده از کودهای شیمیایی و بیولوژیک روی کنجد نشان داد میزان روغن گیاه با استفاده از کودهای بیولوژیک افزایش قابل توجهی نسبت به شاهد نداشت و در تیمار کودهای بیولوژیک و نصف دوز توصیه شده کودهای شیمیایی میزان روغن به طور قابل توجه افزایش یافت (۴۲).

### عملکرد بذر

با توجه به نتایج بدست آمده بالاترین میزان عملکرد بذر در سطح

۱ و ۳ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک و همچنین کاربرد توام بیوفسفر و سطح ۵ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک به دست آمد که این سه سطح با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند. همچنین سطح ۵ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک نسبت به سطوح دیگر میزان پایین تری داشت. اما نسبت به همین سطح که همراه با استفاده از بیوفسفر بود تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۴). فسفر یک عنصر مهم جهت تقسیم سلولی، توسعه ریشه و تشکیل دانه است. باکتری‌های حلال فسفر اسیدهای آلی تولید می کنند که منجر به افزایش حلالیت فسفر و در دسترس قرار گرفتن آن برای گیاه می شود. کاربرد کودهای بیولوژیک تنها موجب بهبود ساختار گیاه و فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید خاک می شود بلکه دسترسی مطلوب گیاه به آب و عناصر غذایی را فراهم می کند که در نهایت باعث بهبود عملکرد گیاه می شود (۱۹). رضایی و برادران (۳۷) نشان دادند کود آلی ورمی کمپوست به همراه بیوفسفر موجب بهبود عملکرد دانه در همیشه بهار می شود. نتایج تیمار اسید هیومیک روی زیره سبز نشان داد ترکیب اسید هیومیک و فولویک اسید بالاترین میزان عملکرد بذر را در زیره سبز موجب شد. اسید هیومیک از طریق اثرات مثبت فیزیولوژیک از جمله، اثر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ باعث افزایش عملکرد گیاهان می شود (۳۹). نتایج این تحقیق با نتایج محققان دیگر بر روی سیاهدانه (۵)، رازیانه (۷)، ذرت (۸)، لوبیا (۲۸) و برنج (۳۷) با تیمارهای مختلف اسید هیومیک و بیوفسفر مطابقت دارد.

### عملکرد روغن

نتایج بدست آمده نشان داد محلول پاشی اسید هیومیک در هر سه سطح موجب افزایش معنی دار عملکرد نسبت به شاهد شد، ولی این سه سطح با یکدیگر از این نظر معنی دار نبودند (جدول ۴). استفاده از بیوفسفر در سطح صفر و ۱ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک نسبت به شاهد کاهش نشان داد و در سطوح دیگر نسبت به شاهد معنی دار نبود. اگرچه در سطح ۳ و ۵ میلی لیتر بر لیتر اسید هیومیک با کاربرد بیوفسفر نسبت به سطح صفر افزایش معنی داری داشت. نتایج عبدالله و همکاران (۱) روی رزماری نیز کاهش میزان اسانس با تیمار کودهای بیولوژیک را نشان داد. خضایی و همکاران (۲۵) نشان دادند با تیمار اسید هیومیک روی گیاه زوفا بالاترین عملکرد اسانس به دست آمد. همچنین این نتایج با نتایج حسید ال اهل و همکاران (۴۱) مطابقت داشت. اسید هیومیک یک سوسپانسیون از پتاسیم هیومات است که در تولید گیاهان به عنوان تحریک کننده رشد و یا اصلاح کننده خاک استفاده می شود، همچنین تنش‌های گیاهی را کاهش می دهد و مقاومت در برابر آفات و بیماریهای گیاهی را افزایش می دهد که در نهایت موجب افزایش عملکرد می شود (۱۳).

جدول ۴- اثر متقابل بیوفسفر×اسید هیومیک بر برخی صفات گل مغربی  
 Table 4- Interaction Effect of phosphorus × humic acid on some traits of Evening Primrose

| تیمارها<br>Treatments         | ارتفاع<br>Height<br>(cm) | تعداد بذر کیپسول<br>ساقه اصلی<br>Seeds of main<br>stem capsule | میزان روغن<br>Oil content<br>(%) | عملکرد بذر<br>Seed yield<br>(Kg/ha) | عملکرد روغن<br>Oil yield<br>(Kg/ha) |
|-------------------------------|--------------------------|--|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> | 69.7 c                   | 207.42 e   | 17.5 b                           | 1001.7 c                            | 175.2 bc                            |
| A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> | 74.47 b                  | 228.31 d   | 21.5 a                           | 1070.85 a                           | 230.3 a                             |
| A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> | 84.17 a                  | 242.58 b   | 21 a                             | 1080 a                              | 227 a                               |
| A <sub>4</sub> B <sub>1</sub> | 85.59 a                  | 251.17 a   | 21.75 a                          | 1020.95 bc                          | 222 a                               |
| A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> | 77.15 b                  | 233.95 c   | 17.25 b                          | 870.45 d                            | 150.2 d                             |
| A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> | 76.6 b                   | 234.93 c   | 18.25 b                          | 870.18 d                            | 158.9 c                             |
| A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> | 84.2 a                   | 236.81 c   | 18.75 b                          | 1021.8 bc                           | 191.6 b                             |
| A <sub>4</sub> B <sub>2</sub> | 82.35 a                  | 235.32 c   | 17.33 b                          | 1055.85 ab                          | 182.9 b                             |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار (P<0.05) با استفاده از آزمون LSD نمی باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) based on LSD test

B<sub>1</sub>: بدون بیوفسفر، without bio-phosphor، کاربرد بیوفسفر A<sub>1</sub>: هیومیک اسید (صفر میلی لیتر بر لیتر) Humic acid (0 ml/L). A<sub>2</sub>:

هیومیک اسید (۱ میلی لیتر بر لیتر) Humic acid (1 ml/L). A<sub>3</sub>: هیومیک اسید (۳ میلی لیتر بر لیتر) Humic acid (3 ml/L). A<sub>4</sub>: هیومیک اسید (۵ میلی لیتر بر

لیتر) Humic acid (5 ml/L)

## نتیجه گیری کلی

میزان و عملکرد روغن تاثیر قابل توجهی نداشت و در مواردی باعث کاهش عملکرد نیز شد. از میان سطوح مختلف اسید هیومیک سطح ۵ میلی لیتر در لیتر نتایج بهتری داشت و به جز میزان و عملکرد روغن در اثر متقابل با بیوفسفر دارای اثرات بهتری بود.

به طور کلی می توان گفت اسید هیومیک تاثیر بهتری در رشد، عملکرد و میزان روغن داشت. بیوفسفر اگرچه بر صفات رشدی موثر بود و همراه با اسید هیومیک موجب بهبود این خصوصیات شد، اما در

## منابع

- 1- Abdullah A.T., Hanafy M.S., EL-Ghawwas E.O. and Ali Z.H. 2012. Effect of Compost and some Bio-fertilizers on Growth, Yield, Essential Oil Productivity and Chemical Composition of *Rosmarinus officinalis* L. Plants, Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants, 4(2): 201-214.
- 2- Aftab A. and Asghari B. 2008. Rhizobium and Phosphate Solubilizing Bacteria Improve the Yield and Phosphorus Uptake in Wheat (*Triticum sativum*), International Journal of Agriculture & Biology, 10 (1): 85-88.
- 3- Ahmed Y.M., Shalaby E.A. and Shanan N. 2011. The use of organic and inorganic cultures in improving vegetative growth, yield characters and antioxidant activity of roselle plants (*Hibiscus sabdariffa* L.), African Journal of Biotechnology, 10(11): 1988-1996.
- 4- Aisha Ali H., Shafeek M.R., Mahmoud Asmaa R. and El- Desuki M. 2014. Effect of Various Levels of Organic Fertilizer and Humic Acid on the Growth and Roots Quality of Turnip Plants (*Brassica rapa*), Current Science International, 3(1): 7-14.
- 5- Ali E. and Hassan F. 2014. Bio-production of *Nigella sativa* L. seeds and oil in Taif area, International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(1): 315-328.
- 6- Azizi M., Nemati H. and Aroiee H. 2014. Effect of different levels of vermicompost and plant density on oil content and its component of evening primrose (*Oenothera biennis* L.), Iranian Journal of Field Crops Research, 11(4): 608-617. (in Persian)
- 7- Azzaz N.A., Hassan E.A. and Hamad E.H. 2009. The Chemical Constituent and Vegetative and Yielding Characteristics of Fennel Plants Treated with Organic and Bio-fertilizer Instead of Mineral Fertilizer, Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(2): 579-587.
- 8- Bakry M.A.A., Soliman Y.R.A. and Moussa S.A.M. 2009. Importance of micronutrients, organic manure and

- biofertilizer for improving Maize yield and its components grown in desert sandy soil, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5(1): 16-23.
- 9- Befrozfar M. R., Habibi D., Asgharzadeh A., Sadeghi-Shiae M. and Tookaloo M.R. 2013. Vermicompost, plant growth promoting bacteria and humic acid can affect the growth and essence of basil (*Ocimum basilicum* L.), *Annals of Biological Research*, 4(2):8-12.
- 10- Christie W.W. 1999. The analysis of evening primrose oil, *Industrial Crops and Products*, 10:73–83.
- 11- DaneshvarHakimiMeybodi N., Kafi M., Nikbakht A. and Rejali F. 2012. The effect of humic acid on some quantitative and qualitative characteristics Speedy green grass, *Iranian Horticultural Sciences*, 42(4):403-412. (in Persian)
- 12- Das K., Dang R. and Shivananda T.N. 2008. Influence of bio-fertilizers on the availability of nutrients (N, P and K) in soil in relation to growth and yield of *Stevia rebaudiana* grown in South India, *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 1(1): 20-24.
- 13- El-Ghamry A.M., Abd El-Hai K.M. and Ghoneem K.M. 2009. Amino and Humic Acids Promote Growth, Yield and Disease Resistance of Faba Bean Cultivated in Clayey Soil, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 731-739.
- 14- El Gohary A.E., Gamal Mahmoud G. and Hussein M.S. 2013. Effect of Rock Phosphate vs. Biofertilizer on Growth, Yield, and Essential Oil Content of *Mentha longifolia* subsp. Schimper Grey, *Journal of Applied Sciences Research*, 9(11): 5912-5919.
- 15- Fieldsend A.F., and Morison J.I. 2000. Contrasting growth and dry matter partitioning in winter and spring evening primrose crops (*Oenothera* spp.), *Field Crops Research*, 68:9-20.
- 16- Ghasemnezhad A. and Honermeier B. 2007. Seed yield, oil content and fatty acid composition of *Oenothera biennis* L. affected by harvest date and harvest method, *Industrial Crops and Products*, 25:274–281.
- 17- Ghasemnezhad A., Mousavizadeh S.J. and Mashayekhi K. 2011. A study on evening-primrose (*Oenothera biennis* L.) callus regeneration and somatic embryogenesis, *Iranian Journal of biotechnology*, 9(1):31-36.
- 18- Gyvest E.M., Sparks C.A., Fieldsend A.F., Lazzeri P. and Jones H.D. 2001. High frequency of adventitious shoot regeneration from commercial cultivars of evening primrose (*Oenothera* spp.) using thidiazuron, *Annals of Applied Biology*, 138(3):329-332.
- 19- Habibi A., Heidari G.R., Sohrabi Y. and Mohammadi Kh. 2013. Effect of biofertilizers and chemical fertilizers on yield and yield components of pumpkin (*Cucurbita pepo* L. Convar. pepo Var. styriaca), *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 28(4):604-615. (in Persian with English abstract)
- 20- Ismail E.G., Mohamed W. W., Khattab S. and El sharif F. 2013. Effect of manure and bio-fertilizers on growth, yield, Silymarin content and protein expression profile of *Silybum marianum*, *International Journal Medicine & Aromatic Plant*, 3(4):430-438.
- 21- Jahan M. and Nasiri Mahalati M. 2014. Soil fertility and biofertilizers (Agroecological approach), Ferdowsi University of Mashhad, pp.11-21.
- 22- Jin S.S., Sumayoa M., Ye J.H., Byug S.K. and Sa Y.G. 2014. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria as elicitor of systemic resistance against gray leaf spot disease in Pepper, *Applied Soil Ecology*, 73:1-8.
- 23- Kamari Shahmaleki S., Peyvast Gh. A. and Ghasemnejad M. 2013. The effect of humic acid on growth characteristics and yield of tomato Var. Isabella, *Journal of Horticultural Science*, 26(4):358-363. (in Persian).
- 24- Kaya M., Ataki M., Khawari K.M., Ciftci C.Y. and Ozcan S. 2005. Effect of pre-sowing seed treatment with zinc and foliar spray of humic acids on yield of Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(6):875-878.
- 25- Khazaie H.R., Eyshi Rezaie E. and Bannayan M. 2011. Application times and concentration of humic acid impact on aboveground biomass and oil production of hyssop (*Hyssopus officinalis*), *Journal of medicinal Plants Research*, 5(20):5148-5154.
- 26- Koochaki A., Tabrizi L. and Ghorbani R. 2008. The evaluate the effect of biofertilizers on growth characteristics, yield and quality of Hyssop (*Hyssopus officinalis*), *Iranian Journal of Field Crops Research*, 1(6):127-137. (in Persian).
- 27- Mayi A.A., Ramazan Ibrahim Z. and Abdurrahman A. S. 2014. Effect of foliar spray of humic acid, ascorbic acid, cultivars and their interactions on growth of Olive (*Olea European* L.) Transplants Cvs. Khithairy and Sorany, *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(4):18-30.

- 28- Mohammadipour E., Golchin A., Mohammadi J., Negahdar N. and Zarchini M. 2012. Improvement Fresh Weight and Aerial Part Yield of Marigold (*Calendula officinalis* L.) by Humic Acid, *Annals of Biological Research*, 3(11):5178-5180.
- 29- Mohammadvarzi R., Habibi D., Vazan S. and PazeI.A. 2011. Effect of PGPR and nitrogen fertilizer on sunflower seed quality(*Helianthus annus* L.), *Journal of Crop Eco-physiology*, 2(3):156-167.
- 30- Montserrat-de la paz S., Fernandez-Arche M.A., Angel-Martin M. and Garcia-Gimenez M.D. 2014. Phytochemical characterization of potential nutraceutical ingredients from Evening Primrose oil (*Oenotherabiennis* L.), *Phytochemistry Letters*, 8:158–162.
- 31- MoosaviS.Gh., Sedaghatoleslami M.J.,Jouyban Z. and Ansarinia E. 2012. Germination and growth parameters of seedlings of *Oenotherabiennis* L. as affected by salinity stress, *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 2(5):123-127.
- 32- NematiDarbandi H. 2011. Effect of different levels of vermicompost and plant density on quantitative and qualitative characteristics in evening primrose, MSc-Thesis, FersowsiUniversity of Mashhad.
- 33- Omidbaigi R. 2010. Production and Processing of Medicinal Plants, p.352-362, Part 13, Evening primrose, Behnashr publication.
- 34- Osman E.A., M. EL-Masry A. A. and Khatab K. A. 2013. Effect of nitrogen fertilizer sources and foliar spray of humic and/or fulvic acids on yield and quality of rice plants, *Advances in Applied Science Research*, 4(4):174-183.
- 35- Park T. 2009. Chemical information review document for Evening Primrose oil (*Oenotherabiennis* L.), National Toxicology Program, November 2009.
- 36- Pedram M., Ayenehband A. and Modhej A. 2013. The effect of biological and chemical fertilizers and plant density on quality and quantity yield of Safflower (*Carthamustinctorius*L.) under Ahvaz condition, *International journal of Agronomy and Plant Production*, 4(3):524-529.
- 36- Rezae M. and Baradaran R. 2013. Effects of bio fertilizers on the yield and yield components of pot marigold (*Calendula officinalis* L.), *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(3):635-650.(in Persian with English abstract).
- 37- RezaieMoadab A., and NabaviKalat S.M. 2013. The effect of vermicompost and organic fertilizer on seed yield and yield components of basil (*Ocimumbasilicum* L.), *Journal of Crop Eco-physiology*, 6(2):157-170. (in Persian).
- 38- Sadeghimoghaddam S., Molafilabi A., Armin M. and Moslehi J. The effects of chemical and organic fertilizers on yield and yield components of cumin. 2<sup>nd</sup> National Conference on sustainable development of agriculture and the environment healthy, 21 Sep. 2013, Technical College ofShahidMofateh of Hamadan, (in Persian).
- 39- Saeednejad A.H., and Rezvanimoghaddam P. 2010. Evaluate the effects of biological and chemical fertilizers on morphological characteristics, yield, yield components and the percentage of essential oil of cumin (*Cuminumcyminum*), *Journal of Horticultural Science*, 24(1):38-44. (in Persian)
- 40- Said-Al Ahl H., Ayad H.S. and Hendawy S. F. 2009.Effect of potassium humate and nitrogen fertilizer on herb and essential oil of oregano under different irrigation intervals,*Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(3):319-323
- 41- Sandeep K., Piyush P. andMaheshwari D.K. 2009. Reduction in dose of chemical fertilizers and growth enhancement of sesame (*Sesamumindicum* L.) with application of rhizospheric competent *Pseudomonas aeruginosa*LES4, *European Journal of Soil Biology*, 45:334–340.
- 42- Sekeroglu N., and Ozguven M. 2006. Effects of different nitrogen doses and row spacing applications on yield and quality of (*Oenotherabiennis* L.) grown in irrigated lowland and un-irrigated drylandconditions, *Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 30:125-135.
- 43- Shehata M.M. and El-Khawas S.A. 2003. Effect of two bio-fertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acid content, minerals, oil content, protein profiles and DNA banding pattern of sunflower (*Helianthus annus* L. cv. Vedock) yield, *Pakistan Journal of biological science*, 6(14):1257-1268.
- 44- TahamiZarandi S.M.K., Rezvanimoghadam P. and Jahan M. 2010. Effect of compost of city rubbish and some biologic fertilizers on yield, seed yield component and harvest index in sweet basil. (*Ocimumbasilicum*), 1<sup>st</sup> agriculture and stable development national congress, 10-11 March.Islamic Azad University, Shiraz. (in Persian)
- 45- Veisi H., HeidariGh.R. and Sohrabi Y. The effect of mycorrhiza fungi and humic acid fertilizer indifferent levels on yield and quality of Sunflower, 2<sup>nd</sup> National Conference on sustainable development in arid and semi-arid, 4-5 Des 2013. Abarkuh.
- 46- Vilela A., Gonzalez-Paleo L., Rondanini D. and Ravetta D. 2008. Biomass allocation patterns and reproductive

- output of four *Oenothera* L. accessions native to Argentina, *Industrial Crops and Products*, 27:249–256.
- 47- Zare Y., Faravani M. and Koorepaz S. p 26. Effect of biofertilizers on growth, yield and yield component of Black Cumin (*Nigella sativa* L.), National conference on natural products and medicinal plants, 27-28 Sep. 2012, University of Medical Sciences of North Khorasan, Bojnourd. (in Persian).



## Evaluation of Bio-phosphor and Humic Acid on Growth Parameters and Oil Content in Evening Primrose (*Oenothera biennis* L.)

Z. Aghakhani<sup>1\*</sup>- M. Azizi<sup>2</sup>-H.Aroiee<sup>3</sup>

Received: 07-10-2014

Accepted: 08-02-2016

**Introduction:** Evening primrose (*Oenothera biennis* L.) is a relatively new and valuable oilseed crop for temperate region. Its oilseed is important because of high levels of unsaturated fatty acids, especially gamma-linolenic acid. Seeds contain 20-30% oil which includes 70% linoleic acid (LA) and 10% gamma linolenic acid (GLA). Oil content in *O. biennis* is a quantitative trait which controlled by many genes and similar to any other quantitative traits varies with environmental conditions such factors as age of seed and growth conditions. Evening primrose oil, especially gamma-linolenic acid, has many therapeutic properties, and it uses as cure for many diseases such as Diabetes, Eczema, inflammation, Cardiovascular, Cancer, Autoimmune diseases, Rheumatoid Arthritis, Depression. Studies on Medicinal Plants in nature and farmlands show that the use of sustainable agricultural and natural sources are two suitable methods for producing healthy plants. Additionally, the use of bio-fertilizers lead to maximum yield and quality in these plants. Azizi et al. (6) showed that interactions of vermicompost and plant density had significant effect on oil content, oil density and refractive index of evening primrose oil. The best treatments were also including 2 Kg/m<sup>2</sup> of vermicompost, 20 plants/m<sup>2</sup> in terms of oil production, 9 plants/m<sup>2</sup> in terms of oil quality and ratio of unsaturated fatty acids to saturated, respectively.

**Material and Method:** The aim of this research was to determine the effect of humic acid and bio-phosphor application on growth parameters in *O. biennis*. The experiment was conducted based on randomized complete block design with 8 treatments and three replicates during 2013-2014 growing season, at the experimental farm of the faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad... Treatments consisted of 4 levels of humic acid (0, 1, 3, 5 ml/L) and 2 levels of bio-phosphor (without bio-phosphor or with bio-phosphor). Liquid form of humic acid was used, which has low percentage of organic matters (16.5%) and applied as foliar spray after stem elongation in three stages with 10 days intervals until flowers stage. The use of bio-phosphor contain three strains of phosphate solubilizing bacteria (*Pseudomonas putida*, *Bacillus circulans* and *Bacillus subtilis*) with CFU 10<sup>8</sup> numbers of spores (the number of living cells of each bacteria per milliliter). Analysis of variance was calculated using MSTATC and Duncan's multiple range tests was employed at probability level of 5%.

**Results and Discussion:** The results showed that maximum plant height (85.59 cm), number of seed per capsules on main shoot (251.17), oil percent (21.75 %) was obtained by interaction effect between 5 ml/L humic acid and without bio-phosphor. Also, seed yield (1080 kg/ha) and oil yield (227 kg/ha) increased by interaction effect between 3 ml/L humic acid and without bio-phosphor. Humic acid had a significant effect on increasing number of lateral branches (26/8), number of capsules on main shoot (117/35), as the highest value of all traits were obtained in 5 ml/L humic acid treatment. The highest number of capsules in lateral branches was observed in bio-phosphor treatment without humic acid. Bio-phosphor application had no significant effect on increasing oil percent. Oil yield was reduced by using of this fertilizer with 1 ml/L humic acid treatment but application of 3 and 5 ml/L of humic acid showed no significant difference in comparison to control. Ahmed et al. reported that humic acid is a suspension based on potassium humate, which can be used as a plant growth stimulant in order to increase plant natural resistance against diseases and pests and subsequently increase plant yields. Phosphorus is an important element for cell division, root development and seed formation. Phosphate solubilizing bacteria produce organic acids which increase solubility of phosphorus and make it available for plants. Use of bio-fertilizers not only improves plant structure and activity of beneficial soil microorganisms, also it provides good availability of water and nutrients which finally improve plant yield. It can be said that foliar spray by humic acid stimulates plant growth and increase evening primrose oil content.

**Conclusions:** Application of 3 and 5 ml/L of humic acid had the best results on traits and interaction effect between humic acid and bio-phosphor showed positive effects on all traits except oil percent and oil yield. Generally, humic acid had positive effect on plant growth, oil yield, content and composition. Although, bio-phosphor had good effect on seed yield as a growth trait, its application with humic acid improved this

1, 2, 3 – Graduated MSc, Professor and Associate Professor of Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

(\*- Corresponding Author Email: zeinab.aghakhani@mail.ac.ir)



trait. While bio-phosphor had no significant effect on oil content, it can be relative impact on oil composition.

**Keywords:** Phosphate solubilizing bacteria, Plant yield, Organic culture, Organic fertilizers, Medicinal plant



## اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و سرما در بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک سینر (*Pericallis × hybrida*)

کاظم بشیری<sup>۱</sup> - ابوالفضل جوکار<sup>۲\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۲

### چکیده

کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشد یک راهکار شناخته شده برای افزایش کیفیت، عملکرد و تولید خارج از فصل گلها است. بدین منظور جهت برطرف کردن نیاز سرمایی و تولید خارج از فصل گل سینر و بهبود صفات مورفولوژیکی آن، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. تیمارها شامل تیمار سرمایی (شاهد)، جیبرلین ۱۰۰ میلی گرم در لیتر در زمان‌های مختلف (قبل از تیمار سرمایی، اواسط تیمار سرمایی و بعد از تیمار سرمایی)، جیبرلین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر)، بنزیل آدنین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و پاکلوبوترازول (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بودند. نتایج نشان داد که جیبرلین می‌تواند جایگزین نیاز سرمایی سینر برای گلدهی شود. تیمار ۱۰۰ mg/L جیبرلین + ۲۵۰ mg/L پاکلوبوترازول باعث شد تا نسبت به شاهد گلدهی سینر به مدت ۳۲ روز تسریع و طول عمر گل‌ها ۲۴ روز افزایش یابد. تیمار سرمایی همراه با پاکلوبوترازول به غلظت ۵۰۰ میلی-گرم در لیتر با ایجاد شکل جدید پاکوتاه و افزایش قطر گلها بالاترین کیفیت ظاهری را بدست داد. در مجموع با توجه به اینکه تیمار ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر جیبرلین همراه با ۳۰۰ میلی-گرم در لیتر بنزیل آدنین علاوه بر جایگزینی نیاز سرمایی سینر برای گلدهی، دوره رشد آن را ۲۱ روز کاهش داد و توانست وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر ریشه، سطح برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، کیفیت ظاهری، تعداد گل و عمر گلدانی آن را افزایش داد، می‌توان آن را به عنوان تیمار برتر معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: زودرسی، سینر، عمر گلدانی، کیفیت ظاهری

### مقدمه

حالت عادی رشد رویشی یا گلدهی با تأخیر دارند (۲۸). سیتوکینین یکی دیگر از محرک‌های گلدهی در گیاهان است (۳)، کاربرد خارجی سیتوکینین باعث افزایش مریستم فعال گلاذین و تحریک انگیزش گلدهی در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود (۴۶). ترکیبات تریازولی مثل پاکلوبوترازول، از فعالیت آنزیم کائورن‌اکسیداز که مسؤول تبدیل انت کائورن به کائورونیک اسید است، جلوگیری می‌کنند، در نتیجه میزان سنتز جیبرلین کاهش می‌یابد (۲۰). از اثرات ثانویه این ترکیبات کاهش میزان اتیلن می‌باشد که به دنبال آن عمر گل افزایش می‌یابد (۴۳).

گل سینر با نام علمی *Pericallis × hybrida* از گیاهان خانواده Asteraceae است. گل سینر یک گیاه گلدانی گلساره‌ای مهم است که در روز تحویل سال و جشنواره‌های بهاری متقاضیان زیادی دارد (۱۳ و ۴۵). این گیاه برای گلدهی نیاز به سرمای ۷ تا ۱۰ درجه سلسیوس به مدت ۶-۵ هفته دارد. پژوهش حاضر به منظور بررسی امکان برطرف کردن نیاز سرمایی و تولید خارج از فصل گل سینر با کاربرد اسید جیبرلین و بهبود صفات مورفولوژیکی این گیاه زینتی با استفاده از سیتوکینین و پاکلوبوترازول، طراحی و اجرا شد.

شرایط اقلیمی هر منطقه اجازه تولید در تمام سال را نمی‌دهد. از سوی دیگر تولید خارج از فصل دارای مزایایی اقتصادی زیادی است که برنامه‌ریزی صحیح جهت تولید در زمان معینی از سال می‌تواند سوددهی بالایی برای تولید کننده داشته باشد. استفاده از تنظیم-کننده‌های رشد گیاهی یکی از روش‌های رایج تولید خارج از فصل گلها و افزایش کیفیت و عملکرد گیاهان است (۲ و ۷). برخی ترکیبات شیمیایی با شکست خواب، نیاز سرمایی گیاهان را کاهش می‌دهند (۳۲). جیبرلین یکی از مهمترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که می‌تواند جانشین نیاز سرمایی شود و دوره پرورش گیاه را کوتاه نماید (۵). نقش مهم جیبرلین تولید اندام‌های زایشی گیاه است (۳۷) و باعث گلدهی در بسیاری از گونه‌های مختلف گیاهی می‌شود که در

۱ و ۲- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و استادیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

\*- نویسنده مسؤول (Email: ajowkar@shirazu.ac.ir)

## مواد و روش‌ها

بذرهای  $F_1$  گل سینر (*Pericallis × hybrida*) رقم 'Satellite' از نمایندگی شرکت بذر Sakata ژاپن تهیه شد. بذرهای سینی نشاء با نسبت‌های مساوی از خاک لومی، ماسه و خاک‌برگ (۱:۱:۱) کشت شدند و به گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل و در دمای  $18/24$  درجه سلسیوس (روز/شب) قرار داده شدند. دانه‌های سینر در مرحله ۴ برگی به گلدان‌های ۶ سانتی‌متری انتقال داده شدند. طرح آزمایش به صورت کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. با توجه به نیاز سرمایی گل سینر برای گل‌انگیزی، گیاهان شاهد در مرحله ۸ برگی به مدت ۶ هفته به انکوباتور با شرایط محیطی کنترل شده (دمای ۷ تا ۱۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۵ درصد و طول روز ۱۲ ساعت) منتقل شدند. تیمارها شامل محلول‌پاشی جیبرلین ۱۰۰ میلی گرم در لیتر در سه زمان (قبل از تیمار سرمایی، اواسط تیمار سرمایی و بعد از تیمار سرمایی) و ترکیب جیبرلین (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) با بنزیل آدنین (۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و پاکلوبوترازول (۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بودند. گیاهان بعد از یک هفته پس از دریافت سرما با بنزیل آدنین و پاکلوبوترازول محلول‌پاشی شدند. شاهد تنها با آب مقطر محلول‌پاشی شد. هنگام محلول‌پاشی برگی، بستر گلدان‌ها پوشانده شد. برای مشاهده بهتر تأثیر پاکلوبوترازول، محلول‌پاشی آن ۱۴ روز پس از محلول‌پاشی جیبرلین انجام شد. گیاهان بعد از اعمال تیمارها و رشد کافی به گلدان‌های سه کیلوگرمی منتقل شدند. بعد از گلدهی کامل شاخه‌های زایشی، سطح برگ، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه اندازه‌گیری شدند. ارتفاع گیاه با خط‌کش و قطر ساقه و گل با کولیس اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کیفیت ظاهری گیاهان از ۵ نفر دعوت شد تا به گیاهان از اعداد ۱ تا ۹ امتیاز بدهند، عدد ۱ معرف کیفیت ضعیف و عدد ۹ معرف کیفیت بالا بود. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

## نتایج و بحث

### تعداد روز از کشت بذر تا ظهور اولین جوانه گل، شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها و گلدهی کامل

جیبرلین توانست تعداد روز از کشت بذر تا ظهور اولین جوانه گل را کاهش بدهد. کمترین تعداد روز تا ظهور اولین جوانه گل در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $150 \text{ mg/L}$  به دست آمد که ۳۵ روز نسبت به شاهد در گلدهی تسریع حاصل شد (جدول ۱). از طرف دیگر محلول‌پاشی جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  در اواسط تیمار سرمایی زمان ظهور اولین جوانه گل را نسبت به شاهد کمی تسریع کرد. تیمار

سرمایی + بنزیل آدنین  $150 \text{ mg/L}$  نسبت به شاهد منجر به تسریع ۱۲ روز در شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها شد. بیشترین تأخیر در شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها (۱۸ روز) نسبت به شاهد در تیمار جیبرلین  $200 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  مشاهده شد. اگرچه جیبرلین توانست ظهور اولین جوانه گل را تسریع کند اما تعداد روز از ظهور اولین جوانه گل تا شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها را به تأخیر انداخت. تسریع بیش از اندازه جیبرلین در ظهور اولین جوانه گل باشد ممکن است باعث شود اندام‌های گل به طور کامل نمو نیابند، در نتیجه شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها به تأخیر افتد. همچنین محلول‌پاشی جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  در اواسط و اواخر تیمار سرمایی به ترتیب باعث تأخیر و تسریع ۷ روزه در شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها شد. با در نظر گرفتن تعداد روز از کشت بذر تا شکوفایی کامل گل‌ها، بنزیل آدنین و پاکلوبوترازول باعث تسریع در گلدهی کامل به مدت ۱۶-۹ روز شدند، درحالی‌که جیبرلین در غلظت‌های  $100 \text{ mg/L}$  و  $200 \text{ mg/L}$  باعث تسریع ۱۵-۶ روزه در گلدهی کامل شد. حداکثر تسریع در گلدهی کامل (۳۲ روز) در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + پاکلوبوترازول  $250 \text{ mg/L}$  و بیشترین تأخیر در گلدهی کامل (۱۴ روز) در تیمار جیبرلین  $200 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  به دست آمد (جدول ۱). نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی جیبرلین بر روی گل سینر می‌تواند جایگزین نیاز سرمایی و سبب تسریع در گلدهی کامل شود. جیبرلین در گونه‌های مختلف گیاهی چون زنبق، سوسن، لاله و سنبل برای جایگزینی سرما استفاده شده است (۹). کاربرد جیبرلین در گل‌های زنبق (۱۹)، جعفری (۴۲)، سیکلامن (۳۳) و آهار (۱۲) باعث تسریع در گلدهی شد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. در تحقیقات پژوهشگران دیگر، کاربرد بنزیل آدنین گلدهی ارکید (۴) و مریم (۳۹) را تسریع کرده است که با نتایج این تحقیق همسو است (جدول ۱). علیرغم اینکه در تحقیق حاضر بر روی گل سینر استفاده از پاکلوبوترازول باعث تسریع در گلدهی شد (جدول ۱)، اما کاربرد پاکلوبوترازول در گل‌هایی چون لاله (۳۰) و مریم (۱۷) باعث تأخیر در گلدهی آنها شد. نورماک و اندرسون (۳۴) گزارش کردند که تأخیر یا تسریع در گلدهی توسط پاکلوبوترازول بسته به گونه گیاهی متفاوت است.

### تعداد روز تا پژمردگی ۵۰ درصد گل‌ها

بیشترین عمر گلدانی گل سینر در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + پاکلوبوترازول  $250 \text{ mg/L}$  به دست آمد (۳۱/۸ روز) که نسبت به شاهد ۲۴ روز عمر گلدانی سینر افزایش یافت. کمترین عمر گلدانی سینر در تیمار شاهد (۷/۶ روز) مشاهده شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی عمر گلدانی سینر را افزایش می‌دهند. ایسون (۱۰) نشان داد که جیبرلین به علت تأخیر در فعالیت آنزیم پروتئاز باعث افزایش عمر گل *Sandersonia* می‌شود. از

طرفی اسید جیبرلیک عمر گیاه را از طریق ممانعت از تجزیه شدن و از بین رفتن کلروفیل طی فرآیند پیری، که ممکن به دلیل نقش ساختاری جیبرلین در غشاء کلروپلاست و تحریک فتوسنتز باشد، افزایش می‌دهد (۱۸ و ۴۰).

جدول ۱- زمان گلدهی و عمر گلدانی سینرر تحت تأثیر سرما، زمان محلول‌پاشی جیبرلین و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی  
Table 1- Flowering time and pot longevity of Cineraria affected by cold, time of gibberellin spraying and application of plant growth regulators

| تیمار<br>Treatment   | مدت زمان از کشت بذر تا ظهور اولین جوانه گل (ماه)<br>Time from seed cultivation to first flower bud emergence (month) | مدت زمان از ظهور اولین جوانه گل تا شکوفایی ۵۰ درصد گل‌ها (روز)<br>Time from first flower bud emergence to 50 percent blooming (day) | مدت زمان از کشت بذر تا گلدهی کامل (روز)<br>Time from seed cultivation to full blooming (day) | تعداد روز تا پژمردگی ۵۰ درصد گل‌ها<br>No. of days to 50 percent flower wilting |
|--|--|---|--|--|
| سرما<br>Cold   | 7.3a   | 30.2fg  | 249.18b  | 7.6k   |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L قبل از سرما<br>100 mg/L GA before cold                 | 7.12ab   | 29.8f-h   | 255.4b   | 12.6ij   |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L اواسط سرما<br>100 mg/L GA in middle of cold            | 6.63d-f  | 39.8de  | 255b   | 20fg   |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L بعد از سرما<br>100 mg/L GA after cold                  | 6.88b-d  | 38de  | 248.6b   | 11.4j  |
| سرما + بنزیل آدنین ۱۵۰mg/L<br>Cold + 150 mg/L BA                       | 7.04a-c  | 21.2i   | 239.98c-e  | 17.4gh   |
| سرما + بنزیل آدنین ۳۰۰mg/L<br>Cold + 300 mg/L BA                       | 6.9b-d   | 32.8f   | 232.46fg   | 14.6hi   |
| سرما + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>Cold + 250 mg/L PA                    | 7.03a-c  | 29.2gh  | 233.92c-g  | 20fg   |
| سرما + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>Cold + 500 mg/L PA                    | 6.9b-d   | 26.8h   | 240.16cd   | 20fg   |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA  | 6.19g  | 37.8de  | 223.74hi   | 26.6bc   |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L + بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 6.17g  | 43.8bc  | 240.72bc   | 29.2ab   |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L + بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 6.7d-g   | 39.6de  | 228.9gh  | 24.4cd   |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 250 mg/L PA | 6.21g  | 30.6fg  | 216.96i  | 31.8a  |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 500 mg/L PA | 6.43fg   | 45.8b   | 238.88c-f  | 23.8c-e  |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA  | 6.39fg   | 41cd  | 232.94e  | 22.6d-f  |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L + بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 6.5e-g   | 36.8e   | 231.92fg   | 26.4bc   |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L + بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 7.1ab  | 50.2a   | 263.26a  | 25.4cd   |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 250 mg/L PA | 6.46fg   | 30.4fg  | 232.88c-e  | 20.8ef   |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 500 mg/L PA | 6.83b-e  | 27.8gh  | 224.26h  | 31a  |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند  
Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) based on LSD test.

سیتوکینین نیز باعث تحریک فتوسنتز، ساخت کربوهیدرات و افزایش عمر گلدانی می‌شود (۲۷). همچنین در تحقیقی بر روی گل لیلیوم نشان داده شده است که ترکیب جیبرلین و بنزیل آدنین باعث افزایش طول عمر گلها می‌شود (۱۱) که با نتایج این پژوهش همسو است (جدول ۱). نشان داده شده است پاکلوبوترازول با کاهش تولید اتیلن و افزایش سنتز پلی‌آمین‌ها می‌تواند باعث تأخیر در پیری گیاهان شود (۳۲ و ۴۳).

### وزن تر و خشک شاخساره

روند افزایشی در میزان وزن تر و خشک تحت تأثیر جیبرلین و بنزیل آدنین و روند کاهش‌ی تحت تأثیر پاکلوبوترازول در گیاهان مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین میزان وزن تر و خشک شاخساره در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  به ترتیب با میانگین  $94/34$  و  $27/49$  گرم به دست آمد که با شاهد اختلاف معنی‌داری دارد. با افزایش غلظت پاکلوبوترازول میزان وزن تر شاخساره کاهش یافت. کمترین میزان وزن تر و خشک شاخساره به ترتیب در تیمارهای سرما + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  با میانگین  $42/38$  گرم و سرما + پاکلوبوترازول  $250 \text{ mg/L}$  با میانگین  $14/57$  گرم مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند. اثر بازدارندگی پاکلوبوترازول بر وزن تر و خشک شاخساره در گیاهانی که با جیبرلین تیمار شده‌اند، با افزایش غلظت جیبرلین کاهش یافت. از طرفی هرچه زمان محلول‌پاشی به انتهای تیمار سرمایی انتقال یافت بر میزان وزن تر و خشک شاخساره افزوده شد (جدول ۲). ماتیو و همکاران (۲۹) نشان دادند که جیبرلین به دلیل سنتز هورمون‌های گیاهی، تثبیت نیتروژن، سنتز برخی آنزیم‌ها چون آمینو کربوکسیلات دی‌آمیناز که سطح هورمون‌های گیاهی را تغییر می‌دهد، انحلال فسفر معدنی و کاهش آسیب پاتوژن‌ها به دلیل سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها و ساییدوفورها باعث افزایش میزان وزن تر و خشک گیاهان می‌شود. خانکاوه و همکاران (۲۶) گزارش کردند که جیبرلین و بنزیل آدنین ممکن است به دلیل افزایش میزان عناصر درون گیاه یا رشد شاخه جدید، وزن تر گیاهان را افزایش دهند. پاکلوبوترازول با ممانعت از سنتز جیبرلین باعث کاهش رشد رویشی می‌شود که به دنبال آن میزان وزن تر و خشک کاهش می‌یابد (۱۵). کاهش رشد رویشی تحت تأثیر پاکلوبوترازول در گیاهانی چون آهار (۲۱) و شمعدانی (۴۱) گزارش شده است.

### وزن تر و خشک ریشه

با افزایش غلظت جیبرلین و بنزیل آدنین میزان وزن تر ریشه افزایش یافت و بیشترین میزان وزن تر ریشه در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  به دست آمد که افزایش معنی‌داری

نسبت به شاهد دارد (جدول ۲). افزایش وزن تر ریشه تحت تأثیر جیبرلین و بنزیل آدنین ممکن است به دلیل انتقال کربوهیدرات به ریشه باشد. از طرفی با افزایش غلظت پاکلوبوترازول روند کاهش در وزن تر ریشه مشاهده شد و کمترین میزان وزن تر ریشه در تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  به دست آمد که کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد دارد. اثر بازدارندگی پاکلوبوترازول بر ریشه با افزایش غلظت جیبرلین کاهش یافت. بیشترین و کمترین میزان وزن خشک ریشه به ترتیب در تیمار سرمایی + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  و تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  مشاهده شد (جدول ۲). گل سینرر به دلیل داشتن سطح برگ زیاد تبخیر و تعرق بالایی دارد (۱۳). بنابراین داشتن یک سیستم قوی و کارآمد به بهبود کیفیت گیاه کمک می‌کند. بر حسب نوع گیاه و غلظت به کار رفته، ترکیبات تریازولی می‌توانند بر رشد ریشه اثر بازدارندگی و تحریک‌کنندگی داشته باشند. مشخص شده است که پاکلوبوترازول بازدارنده رشد ریشه گیاهانی چون آهار (۲۱) و سیب‌زمینی هندی (*Dioscorea rotundata*) (۱) است.

### سطح برگ

با افزایش غلظت جیبرلین و بنزیل آدنین میزان سطح برگ افزایش یافت. بیشترین میزان سطح برگ در جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + بنزیل آدنین  $300 \text{ mg/L}$  با میانگین  $1529/47$  سانتیمتر مربع به دست آمد (جدول ۲). از طرفی هرچه زمان محلول‌پاشی جیبرلین به انتهای تیمار سرمایی پیش می‌رفت بر میزان سطح برگ گیاه افزوده می‌شد. با افزایش میزان غلظت پاکلوبوترازول سطح برگ کاهش یافت و کمترین سطح برگ در تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  با میانگین  $587/04$  سانتیمتر مربع مشاهده شد که نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری دارد (جدول ۲). اثر بازدارندگی پاکلوبوترازول بر میزان سطح برگ با افزایش غلظت جیبرلین کاهش یافت (جدول ۲). گزارش شده است که با کاربرد پاکلوبوترازول به دلیل ممانعت از سنتز جیبرلین سطح برگ کاهش می‌یابد (۱۶). همچنین کاهش سطح برگ ناشی از بکارگیری پاکلوبوترازول در گیاهانی چون شمعدانی (۶) و کوکب کوهی (۲۲) نیز مشاهده شده است.

### ارتفاع و قطر گیاه

با افزایش غلظت جیبرلین میزان ارتفاع گیاه افزایش یافت. بیشترین ارتفاع گیاه با میانگین  $21/4$  سانتیمتر در غلظت  $200$  میلی‌گرم در لیتر جیبرلین به دست آمد که نسبت به کاهش افزایش معنی‌داری دارد (جدول ۳). از طرفی محلول‌پاشی جیبرلین قبل از تیمار سرمایی اثر معنی‌داری بر افزایش ارتفاع نداشت.

جدول ۲- شاخص‌های فیزیولوژیک سینرر تحت تأثیر سرما، زمان محلول پاشی جیبرلین و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی  
Table 2- Physiological characteristics of Cineraria affected by cold, time of gibberellin spraying and application of plant growth regulators

| تیمار<br>Treatment  | وزن تر<br>شاخساره (گرم)<br>Shoot fresh weight (g) | وزن خشک<br>شاخساره (گرم)<br>Shoot dry weight (g) | وزن تر ریشه<br>(گرم)<br>Root fresh weight (g) | وزن خشک ریشه<br>(گرم)<br>Root dry weight (g) | سطح برگ<br>(cm <sup>2</sup> )<br>Leaf area (cm <sup>2</sup> ) |
|---|---|--|---|--|---|
| سرما<br>Cold  | 57.82f  | 21.54de  | 10.61g  | 6.14d-f                                      | 1025.34f  |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L قبل از سرما<br>100 mg/L GA before cold                | 45.56hi   | 15.37gh  | 13.98b-e                                      | 7.4bc  | 1463.23bc   |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L اواسط سرما<br>100 mg/L GA in middle of cold           | 51.74g  | 21.23de  | 14.76ab                                       | 7.74b  | 1430.5cd  |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L بعد از سرما<br>100 mg/L GA after cold                 | 57.82f  | 22.55c-e   | 15.08a  | 7.72b  | 1469.47a-c  |
| سرما + بنزیل آدنین ۱۵۰mg/L<br>Cold + 150 mg/L BA                      | 67.8b-d   | 22.29de  | 12.38f  | 7.21bc                                       | 1351.59e  |
| سرما + بنزیل آدنین ۳۰۰mg/L<br>Cold + 300 mg/L BA                      | 72.36b  | 24.32a-d   | 13.63c-e                                      | 9.02a  | 1319.71e  |
| سرما + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>Cold + 250 mg/L PA                   | 50.87gh   | 14.57h   | 8.36h   | 4.55gh                                       | 799.21g   |
| سرما + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>Cold + 500 mg/L PA                   | 42.38i  | 17.92fg  | 6.81i   | 3.69h  | 587.04h   |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA                                       | 65.45c-e  | 21.89de  | 14.27a-d                                      | 5.9ef  | 1338.58e  |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L + بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 91.35a  | 26.2ab   | 14.69a-c                                      | 6.89b-d                                      | 1459.03bc   |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L + بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 94.34a  | 27.49a   | 14.8ab  | 7.58b  | 1529.47a  |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 250 mg/L PA | 70.89bc   | 23.61b-d   | 10.28g  | 5.42fg                                       | 1086.73f  |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 500 mg/L PA | 61.47ef   | 22.75c-e   | 10.75g  | 5.47fg                                       | 1046.38f  |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA                                       | 70.74bc   | 25.73a-c   | 14.82ab                                       | 7.71b  | 1470.19a-c  |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L + بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 65.3c-e   | 22.96b-d   | 14.44a-d                                      | 7.22bc                                       | 1447.84bc   |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L + بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 92.86a  | 23.31b-d   | 15.5a   | 7.6b   | 1508.1ab  |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 250 mg/L PA | 64.68de   | 23.36b-d   | 13.53de                                       | 7.7b   | 1377.39de   |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 500 mg/L PA | 58.87e  | 19.38ef  | 12.99ef                                       | 6.55c-e                                      | 1339.7e   |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند  
Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ) based on LSD test.

با افزایش غلظت جیبرلین کاهش یافت. تیمارها اختلاف معنی‌داری در قطر ساقه نشان ندادند اما بیشترین و کمترین قطر ساقه به ترتیب در تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L با میانگین ۸/۷۱ میلی-متر و جیبرلین ۱۰۰mg/L قبل از تیمار سرمایی با میانگین ۵/۹۷

با افزایش غلظت پاکلوبوترازول میزان ارتفاع گیاه کاهش یافت. کمترین میزان ارتفاع گیاه در تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L با میانگین ۸/۲ سانتیمتر به دست آمد که نسبت شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. اثر بازدارندگی پاکلوبوترازول بر میزان ارتفاع گیاه

کاهش تعداد گل تحت تأثیر پاکلوبوترازول در گل‌های یاسمن (۲۳)، کوکب کوهی (۲۲) و مریم (۱۷) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش همسو است. کاربرد خارجی سیتوکینین باعث افزایش مرستم فعال گل‌زین و تحریک انگیزش گلدهی در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود (۴۶). گزارشهایی مبنی بر افزایش تعداد گل تحت تأثیر بنزیل‌آدنین در گل‌های ارکید (۴) مریم (۲۵) و آهار (۱۲) وجود دارد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارند (جدول ۳).

### قطر گل

پاکلوبوترازول قطر گل‌ها را افزایش داد. بیشترین میزان قطر گل در تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  به دست آمد که قطر گل را نسبت به شاهد نزدیک به یک سانتیمتر افزایش داده است (جدول ۳). افزایش قطر گل در این تیمار می‌تواند مرتبط با کاهش رشد رویشی (جدول ۲)، ارتفاع گیاه و تعداد گل سینر باشد (جدول ۳). کمترین میزان قطر گل در تیمار محلول‌پاشی جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  قبل از تیمار سرمایی با میانگین  $1/98$  سانتیمتر مشاهده شد که با تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  بعد از تیمار سرمایی و جیبرلین  $300 \text{ mg/L}$  + بنزیل‌آدنین  $300 \text{ mg/L}$  اختلاف معنی‌داری نشان نداد. کاهش قطر گل در غلظت‌های بالای جیبرلین و بنزیل‌آدنین ممکن است به دلیل انتقال بیشتر کربوهیدرات‌ها برای رشد رویشی شاخه‌ها باشد. در تحقیقی مشابه با تحقیق حاضر، محلول‌پاشی اندام‌هوایی گیاه اوستوسپرموم با پاکلوبوترازول باعث افزایش قطر گل گردید (۳۶)، اما اثر محلول‌پاشی پاکلوبوترازول روی گل داوودی متفاوت بوده باعث کاهش قطر آن شد (۱۵). حتی و همکاران (۲۱ و ۲۲) گزارش کردند که قطر گل آهار و کوکب کوهی تحت تأثیر تیمار پاکلوبوترازول قرار نمی‌گیرند. اثر ترکیبات کندکننده‌ی رشد بر قطر گل به تعداد مرتبه کاربرد، شرایط محیطی، حساسیت گیاه و نحوه کاربرد آن بستگی دارد (۳۸).

میلی‌متر به دست آمد (جدول ۳). جیبرلین باعث افزایش طولی ساقه می‌شود (۲۴) و پاکلوبوترازول با ممانعت از سنتز جیبرلین باعث کاهش طول ساقه می‌شود (۴۴). افزایش ارتفاع گیاه ناشی از کاربرد جیبرلین در گل‌هایی چون مریم (۳۹)، زنبق (۱۹) و سیکلمن (۳۳) مشاهده شده است و در مقابل کاهش ارتفاع گیاه تحت تأثیر پاکلوبوترازول در گل‌های مریم (۱۷)، آهار (۲۱) و سوسن شرقی (۱۴) گزارش شده است که با نتایج این تحقیق همسو هستند (جدول ۳).

### تعداد گل

نتایج نشان داد جیبرلین در غلظت پایین می‌تواند جایگزین نیاز سرمایی در گل سینر باشد اما میزان تولید گل آن به اندازه سرما نیست. با افزایش غلظت جیبرلین و بنزیل‌آدنین تعداد گل افزایش یافت (جدول ۳). هنگامی که جیبرلین با بنزیل‌آدنین ترکیب شد تعداد گل را افزایش داد به طوری که بیشترین تعداد در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + بنزیل‌آدنین  $300 \text{ mg/L}$  مشاهده شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. در تحقیقات دیگر بر روی گل‌های شیپوری (۳۱) و سوسن (۳۵) محلول‌پاشی توآمان بنزیل‌آدنین و جیبرلین توانست تعداد گل‌ها را افزایش دهد. با انتقال زمان محلول‌پاشی سینر با جیبرلین به بعد از تیمار سرمایی، تعداد گل افزایش یافت که ممکن است به دلیل نقش تکمیلی جیبرلین در رفع نیاز سرمایی باشد (جدول ۳). علاوه بر آن محلول‌پاشی جیبرلین قبل از تیمار سرمایی باعث کاهش تولید گل شد که ممکن است به دلیل اختلاف زمان محلول‌پاشی باشد که محلول‌پاشی بعد از تیمار سرمایی مکمل تولید گل و قبل از تیمار سرمایی بازدارنده تولید گل است. با افزایش غلظت پاکلوبوترازول تعداد گل در گیاه کاهش یافت که کمترین تعداد گل در تیمار جیبرلین  $100 \text{ mg/L}$  + پاکلوبوترازول  $500 \text{ mg/L}$  دیده شد (جدول ۳). اثر بازدارندگی پاکلوبوترازول بر تعداد گل در گیاهانی که نیاز سرمایی آنها با جیبرلین برطرف شده بود، بیشتر مشهود بود.



شکل ۱- اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و سرما بر کیفیت ظاهری سینر: الف) سرما +  $500 \text{ mg/L}$  پاکلوبوترازول؛ ب) سرما +  $300 \text{ mg/L}$  بنزیل‌آدنین؛ ج)  $200 \text{ mg/L}$  جیبرلین اسید

Figure 1- Effect of plant growth regulators and cold on visual quality of Cineraria: A) Cold +  $500 \text{ mg/L}$  paclobutrazole; B) Cold +  $300 \text{ mg/L}$  benzyl adenine; C)  $200 \text{ mg/L}$  gibberellin



جدول ۳- صفات مورفولوژیک سینرر تحت تأثیر سرما، زمان محلول‌پاشی جیبرلین و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی  
Table 3- Morphological traits of Cineraria affected by cold, time of gibberellin spraying and application of plant growth regulators

| تیمار<br>Treatment  | ارتفاع گیاه (cm)<br>Plant height<br>(cm) | قطر ساقه (mm)<br>Stem diameter<br>(mm) | تعداد گل<br>No. of<br>flower | قطر گل (cm)<br>Flower diameter<br>(cm) | کیفیت ظاهری<br>Visual<br>quality |
|---|--|--|------------------------------|--|----------------------------------|
| سرما<br>Cold  | 11.2i                                    | 7.46a-e                                | 24.4f                        | 2.44f-h                                | 6.4fg                            |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L قبل از سرما<br>100 mg/L GA before cold              | 13hi                                     | 5.97e                                  | 15hi                         | 1.98i                                  | 7.2d-f                           |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L اواسط سرما<br>100 mg/L GA in middle of cold         | 20.4a-c                                  | 6.2de                                  | 32.2e                        | 2.45e-h                                | 8.4ab                            |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L بعد از سرما<br>100 mg/L GA after cold               | 17.6d-f                                  | 6.5c-e                                 | 34.2e                        | 2.26hi                                 | 7.4c-e                           |
| سرما + بنزیل آدنین ۱۵۰mg/L<br>Cold + 150 mg/L BA                    | 15.8fg                                   | 8.01a-c                                | 41.2d                        | 2.94b-d                                | 8.6a                             |
| سرما + بنزیل آدنین ۳۰۰mg/L<br>Cold + 300 mg/L BA                    | 18.2c-f                                  | 7.05b-e                                | 44.4cd                       | 2.76d-g                                | 5.8g                             |
| سرما + پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>Cold + 250 mg/L PA                 | 8.4j                                     | 7.9a-c                                 | 19gh                         | 3.18ac                                 | 8.4ab                            |
| سرما + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>Cold + 500 mg/L PA                 | 8.2j                                     | 8.71a                                  | 21g                          | 3.38a                                  | 8.6a                             |
| جیبرلین ۱۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA                                     | 17.4ef                                   | 6.53c-e                                | 20.2g                        | 2.97b-d                                | 7d-f                             |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L+بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 20.8ab                                   | 7.64a-d                                | 55.2b                        | 2.7d-g                                 | 8.6a                             |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L+بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 20.6a-c                                  | 8.52ab                                 | 91a                          | 2.81c-g                                | 8.4ab                            |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L+پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 250 mg/L PA | 11.8hi                                   | 6.84c-e                                | 25.4f                        | 2.69d-g                                | 7d-f                             |
| جیبرلین ۱۰۰mg/L+پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>100 mg/L GA + 500 mg/L PA | 11.2i                                    | 6.6c-e                                 | 14.4i                        | 2.83c-e                                | 6.6e-g                           |
| جیبرلین ۲۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA                                     | 21.4a                                    | 6.95b-e                                | 34.2e                        | 2.86bc                                 | 7d-f                             |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L+بنزیل آدنین ۱۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 150 mg/L BA   | 20a-d                                    | 6.25de                                 | 48.4c                        | 2.42gh                                 | 8.2a-c                           |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L+بنزیل آدنین ۳۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 300 mg/L BA   | 18.8b-e                                  | 6.87c-e                                | 31e                          | 2.28hi                                 | 7.2d-f                           |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L+پاکلوبوترازول ۲۵۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 250 mg/L PA | 13.8gh                                   | 7.3a-e                                 | 20g                          | 3.23ab                                 | 7.4c-e                           |
| جیبرلین ۲۰۰mg/L+پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L<br>200 mg/L GA + 500 mg/L PA | 13.4g-i                                  | 7.51a-e                                | 14.8i                        | 2.83c-e                                | 7.6b-d                           |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند  
Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ) based on LSD test

### کیفیت ظاهری

دست آورد (جدول ۳) (نگاره ۱- الف). از طرفی کمترین میزان کیفیت ظاهری در تیمار سرمایی + بنزیل آدنین ۳۰۰mg/L مشاهده شد. غلظت بالای بنزیل آدنین باعث خمیده شدن برخی از شاخه‌های جانبی به سمت بیرون گلدان شد که ممکن است به دلیل فرآیند رقیق‌سازی رخ داده باشد که میزان جذب کلسیم کمتر از میزان رشد شاخه بوده باشد (نگاره ۱- ب). فرم جدید دیگر با کیفیت ظاهری پایین در تیمار

برترین کیفیت ظاهری در تیمار سرما + بنزیل آدنین ۱۵۰mg/L، تیمار سرما + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L و جیبرلین ۱۰۰mg/L + بنزیل آدنین ۱۵۰mg/L مشاهده شد (جدول ۳). تیمار سرمایی + پاکلوبوترازول ۵۰۰ mg/L با ایجاد فرم پاکوتاه، گل‌زین متراکم و افزایش قطر گلها توانست بالاترین امتیاز را در کیفیت ظاهری به

زینتی آن را بهبود بخشد. تیمار سرمایی همراه با پاکلوبوترازول به غلظت ۵۰۰ میلی گرم در لیتر موجب شد تا قطر گلها بزرگتر و شکل گیاه فشرده تر ایجاد شود. همچنین تیمار اسید جیبرلیک به غلظت ۱۰۰ میلی گرم همراه با پاکلوبوترازول به غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر باعث کاهش ۳۲ روزه دوره ی رشد سینرر و ایجاد فرم جدید پاکوتاه شد. در مجموع با توجه به اینکه محلول پاشی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر جیبرلین همراه با ۳۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین علاوه بر جایگزینی نیاز سرمایی سینرر برای گلدهی، دوره رشد آن را ۲۱ روز کاهش داد و همچنین وزن تر و خشک شاخساره، وزن تر ریشه، سطح برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، کیفیت ظاهری، تعداد گل و عمر گلدانی آن را نیز افزایش داد، به عنوان تیمار برتر معرفی می شود.

جیبرلین ۲۰۰ mg/L دیده شد. در این تیمار گلها فاقد گلچه های زبانه ای بودند که به دلیل تسریع در گلدهی سینرر (جدول ۱) احتمالاً همه اندام های گل نتوانسته اند بطور کامل نمو پیدا کنند (نگاره ۱-ج).

### نتیجه گیری کلی

محلول پاشی با جیبرلین، بنزیل آدنین و پاکلوبوترازول توانست تأثیر مثبتی بر ویژگی های مورفولوژیکی سینرر بگذارد و رشد و نمو آن را افزایش دهد. به دلیل اینکه گلدهی سینرر وابسته به تأمین سرمایی آن است، استفاده از اسید جیبرلیک با جایگزینی سرما می تواند محدودیت کشت آن را برطرف کند. از آنجایی که گل سینرر یک گیاه گلدار گلدانی گلساره ای می باشد، ایجاد فرم جدید گلدانی می تواند جنبه

### منابع

- 1- Abdul Jaleel C., Kishorekumar A., Manivannan P., Sankar B., Gomathinayagam M., Gopi R., Somasundaram, R. and Panneerselvam R. 2007. Alterations in carbohydrate metabolism and enhancement in tuber production in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) under triadimefon and hexaconazole applications, *Journal of Plant Growth Regulation*, 53(1):7-16.
- 2- Akram, N.A. and Ashraf M. 2013. Regulation in plant stress tolerance by a potential plant growth regulator, 5-aminolevulinic acid, *Journal of Plant Growth Regulation*, 32:663-679.
- 3- Bernier G., Havelange A., Houssa C., Petitjean, A. and Lejeune P. 1993. Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell*, 5:1147-1155.
- 4- Blanchard, M.G. and Runkle E.S. 2008. Benzyladenine promotes flowering in *Doritaenopsis* and *Phalaenopsis* orchids, *Journal of Plant Growth Regulation*, 27:141-150.
- 5- Chang, Y.S. and Sung F.H. 2000. Effects of gibberellin and dormancy-breaking chemicals on flower development of *Rhododendron pulchrum* 'Sweet' and *R. scabrum* Don, *HortScience*, 83:331-337.
- 6- Cox, D.A. and Keever G.J. 1988. Paclobutrazol inhibits growth of zinnia and geranium, *HortScience*, 23:1029-1030.
- 7- Dashora, L.D. and Jain P.M. 1994. Effect of growth regulators and phosphorus levels on growth and yield of soybean, *Madras Agriculture Journal*, 81:235-237.
- 8- Davies P.J. 2010. *Plant Hormones*. Springer, New York.
- 9- Da Silva Vieira M.R., Citadini V., Preira Lima G.P., de Souza, A.V. and de Souza Alvez L. 2010. Use of gibberellin in floriculture, *African Journal of Biotechnology*, 9(54):9118-9121.
- 10- Eason J.R. 2002. *Sandersonia aurantiaca*: an evaluation of postharvest pulsing solutions to maximize cut flower quality, *HortScience*, 30:27-279.
- 11- Emongor, V. and Tshwenyane S.O. 2004. Effect of Accel on the postharvest vase life of easter lily, *Journal of Agronomy*, 3(3):170-174.
- 12- Esmaeili S., Rouhi V., Shiran, B. and Mohamadkhani A. 2013. Effects of calcium chloride, gibberellin and benzyladenine on qualitative and quantitative characteristics and flower longevity of zinnia (*Zinnia elegans* J.), *Journal of Horticulture Science*, 27(4):444-452. (in Persian with English abstract)
- 13- Ghasemi Ghehsareh, M. and Kafi M. 2009. *Scientific and practical floriculture*, vol. 1. Razavi Publications, p. 310. (in Persian)
- 14- Gianfagna, T.J. and Wulster G.J. 1986. Comparative effects of Ancymidol and Paclobutrazol on easter lily, *HortScience*, 21:463-464.
- 15- Gilbertz D.A. 1992. *Chrysanthemum* response to timing of paclobutrazol and uniconazole sprays, *HortScience*, 27: 322-323.
- 16- Gopi R., Sridharan R., Somasundaram R., Alagu Lakshmanan, G.M. and Panneerselvam R. 2005. Growth and photosynthetic characteristics as affected by triazoles in *Amorphophallus campanulatus*, *General and Applied Plant Physiology*, 31(3-4):171-180.
- 17- Hadizadeh H., Tehranifar A., Shoor, M. and Nemati S.H. 2010. Investigation of dwarfness effect of paclobutrazol on tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) and possibility of pot tuberose production, *Journal of Horticulture Science*, 24(1):7-13. (in Persian with English abstract)
- 18- Halevy, A.H. and Mayak S. 1981. Senescence and postharvest physiology of cut flowers, p. 59-258. In: J. Janick

- (ed.) Horticultural Reviews, Part 4. AVI, Westport.
- 19- Hassanpur Asil M., Mortazavi S.H., Hatam Zadeh, A. and Ghasem Nezhad M. 2012. Effects of gibberellin and calcium on reducing growth period of iris (*Iris holandica* var. Blue Magic) in greenhouse and extension of its cut flower life, *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 3(9):63-70. (in Persian with English abstract)
  - 20- Hazraika B.N. 2003. Acclimatization of tissue-cultured plants, *Current Science*, 85(12-25): 1704-1712.
  - 21- Hojjati M., Etemadi, N. and Baninasab B. 2009. Effect of paclobutrazol and cycocel on vegetative growth and flowering of zinnia (*Zinnia elegans*), *Journal of Horticulture Science*, 13(47):649-656. (in Persian with English abstract)
  - 22- Hojjati M., Etemadi, N. and Baninasab B. 2010. Effect of paclobutrazol and cycocel on vegetative growth and flowering of rudbeckia, *Journal of Horticulture Science*, 24(2):122-127. (in Persian with English abstract)
  - 23- Kamoutsis A.P., Chronopoulou-Sereli, A.G. and Paspatis E.A. 1999. Paclobutrazol affects growth and flower bud production in *Gardenia* under Different Light Regimes, *HortScience*, 34(4):674-675.
  - 24- Khangoli S. 2001. Potential of growth regulators on control of size and flowering of ornamental plants, *Proceeding of the first applied seminar on flowering and ornamental plants*, Mahalat, Iran.
  - 25- Kheiry A., Khalighi A., Mostofi, Y. and Naderi R. 2011. Effects of gibberellin (GA<sub>3</sub>) and benzyladenine on tuberose quality and quantity, *Journal of Crops Improvement*, 13(1):9-20. (in Persian with English abstract)
  - 26- Khuankaew T., Ohyama, T. and Ruamrungsri S. 2008. Effect of gibberellin application on growth and development of *Curcuma alismatifolia* Gagnep, *Bulletin of the Faculty of Agriculture of Niigata University*, 60(2):135-140.
  - 27- Kubo, M. and Kakimoto T. 2000. The cytokinin-hypersensitive genes of *Arabidopsis* negatively regulate the cytokinin-signaling pathway for cell division and chloroplast development, *The Plant Journal*, 23:285-294.
  - 28- Lang A. 1970. Gibberellins: Structure and metabolism, *Annual Review of Plant Physiology*, 21:537-570.
  - 29- Matthew C., Hofmann, W.A. and Osborne M.A. 2009. Pasture response to gibberellins: a review and recommendations, *New Zealand Journal of Agriculture Research*, 52:213-225.
  - 30- Mc Daniel G.L. 1983. Growth retardation activity of paclobutrazol on chrysanthemum, *HortScience*, 18:199-200.
  - 31- Naderi, R. and Majidian N. 2009. Effects of four levels of gibberellin and 6-benzyl adenine plant growth regulators on quantitative and qualitative characteristics of zantedeschia flower (*Zantedeschia aethiopica*) cv. Childsiana, Sixth horticultural congress, Shiraz University. (in Persian)
  - 32- Naseri, M. and Ebrahimi Geravi A. 1998. *Physiology of bulbous flowers*, Persian translation, Mashad University Publications. (in Persian)
  - 33- Norouzi P., Naderi R., Babalar M., Kalantari, S. and Kafi M. 2012. The effect of gibberellin (GA<sub>3</sub>) on some characteristics of cyclamen flowering during the second flowering year, *Iranian Journal of Horticulture Sciences*, 43(3):305-310. (in Persian)
  - 34- Norremark, I. and Andersen A. 1990. Effect of Paclobutrazol on seed propagated *Pelargonium hortorum* L.H. Bailey, *Gartenbauwissenschaft*, 55:1-8.
  - 35- Ohkawa K. 1979. Effects of gibberellins and benzyladenine on dormancy and flowering of *Lilium speciosum*, *Scientia Horticulturae*, 10:255-260.
  - 36- Olsen, W.W. and Andersen A.S. 1995. The influence of five growth retardants on growth and post production qualities of *Osteospermum ecklonis* cv. 'Calypso', *Scientia Horticulturae*, 62:263-270.
  - 37- Pharis, R.P. and King R.W. 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants, *Annual Review of Plant Physiology*, 36:517-568.
  - 38- Pinto A.C.R., Rodrigues T.D.D., Leits, I.C. and Barbosa J.C. 2005. Growth retardants on development and ornamental quality of potted 'Liliput' *Zinnia elegans* Jacq, *Scientia Agricola*, 62:337-345.
  - 39- Shoor M., Khalighi A., Omidbeighy, R. and Naderi R. 2005. Effects of gibberellin and 6-benzyl adenine on quantitative characteristics of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.), *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 12(4):12-7. (in Persian with English abstract)
  - 40- Skutink E., Lukaszews A., Serek, M. and Rabiza J. 2001. Effect of growth regulators on postharvest characteristics of *Zantedeschia aethiopica*, *Postharvest Biology and Technology*, 21:241-246.
  - 41- Tayama, H.K. and Carver S.A. 1990. Zonal geranium growth and flowering responses to six growth regulators, *HortScience*, 25:82-83.
  - 42- Tripathi A.N., Tripathi S.N., Shukla, R.K. and Pandey G. 2003. Effect of GA, NAA and CCC on growth and flowering of French marigold (*Tagetes patula*), *Journal of Applied Horticulture*, 5(2):112-113.
  - 43- Wang C.K. 1985. Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bioregulator paclobutrazol (PP333), *Scientia Horticulturae*, 26:293-298.
  - 44- Wang H.Q., Li H.S., Liu, F.L. and Xiao L.T. 2009. Chlorocholin chloride application effects on photosynthetic capacity and photoassimilates partitioning in potato (*Solanum tuberosum* L.), *Scientia Horticulturae*, 119(2):113-116.

- 45- Wang J., Wei L., Hong-wei R., Yuan-da L., Ding, B. and Jing X. 2014. Cloning and expression analysis of *Mlo* gene from *Pericallis hybrida* B. Nord, Journal of Northeast Agricultural University, 21(1):10-15.
- 46- Werner, T. and Schmulling T. 2009. Cytokinin action in plant development, Current Opinions in Plant Biology, 12:527-538.



## Effect of Plant Growth Regulators and Cold on Improvement of Morphological Characteristics of Cineraria (*Pericallis* × *hybrida*)

K. Bashiri<sup>1</sup> - A. Jowkar<sup>2\*</sup>

Received: 28-10-2015

Accepted: 01-06-2016

**Introduction:** The climate of every region does not let to have year-round production of crops. Use of plant growth regulators allows to produce the flowers out of season and improve their quality and yield. Gibberellin is one of the plant growth regulators which can substitute cold requirement of plants, while cytokinin is another plant growth regulator to stimulate floral initials. Paclobutrazol is a triazole compound that inhibits gibberellin synthesis. Cineraria (*Pericallis* × *hybrida*) as a prominent flowering pot plant has a growing demand during the spring festivals especially Nowrouz, which needs further improvement of quality and yield. In this regard a study was designed to examine the morphological characteristics of cineraria using gibberellin, cytokinin, paclobutrazol and cold.

**Materials and Methods:** Seeds of cineraria (*Pericallis* × *hybrida* cv. Satellite) were sown in plug trays at the research greenhouse of college of agriculture, Shiraz University. A study was carried out with a completely randomized design and five replications. Control plants were transferred to incubators at eight leaves stage to receive six weeks of cold. Spraying treatments consisted of control (water), 100 mg/L gibberellin at three times (before cold, middle of cold and after cold), combinations of cold and/or gibberellin (100, 200 mg/L) with benzyl adenine (150, 300 mg/L) and/or paclobutrazol (250, 500 mg/L). In order to better understand the effects of paclobutrazol, its treatments were applied two weeks after gibberellin treatments. Data analysis was done by SAS 9.1 software and means were compared by LSD at 5 percent probability level.

**Results and Discussions:** Gibberellin can be used as a replacement for cold. The maximum acceleration of full flowering (32 days) and the greatest delay of full bloom (14 days) were observed in 100 mg/L gibberellin + 250 mg/L paclobutrazol and 200 mg/L gibberellin + 300 mg/L benzyl adenine, respectively. These results were consistent with other studies on iris, lily, tulip and hyacinth. The highest longevity of cineraria was observed in 100 mg/L gibberellin + 250 mg/L paclobutrazol (31.8 days) which showed increasing of 24 days compared to control. Gibberellin and cytokinin lengthened the life of flowers, while paclobutrazol reduced the ethylene production and delayed the senescence. The greatest shoot fresh and dry weight was evaluated in 100 mg/L gibberellin + 300 mg/L benzyl adenine, while paclobutrazol decreased the plant growth. Similar results have been reported in zinnia and geranium. Gibberellin and cytokinin increased leaf area, while paclobutrazol decreased it. The highest leaf area was detected using 100 mg/L gibberellin + 300 mg/L benzyl adenine. . Maximum flower number was obtained using 100 mg/L gibberellin + 300 mg/L benzyl adenine, while the lowest number was obtained by 100 mg/L gibberellin + 500 mg/L paclobutrazol application. In addition, observations in orchid and jasmine were showed similar result. Gibberellin enhanced and paclobutrazol decreased plant height. Plants spraying with 200 mg/L gibberellin and cold + 500 mg/L paclobutrazol showed the maximum and minimum height, respectively. Similar observations have been found in cyclamen and tuberose. number. . Also, Paclobutrazol application enlarged flower diameter. The greatest enhancement of flower diameter ( 1 cm) was found by cold + 500 mg/L paclobutrazol spray. Flower diameter improvement is related to the severed growth, height and flower number by paclobutrazol. Flower diameter reduction in higher concentrations using gibberellin and cytokinin may be attributed to increasing translocation of carbohydrates to shoots and vegetative growth rather than flowers. Osteospermum and chrysanthemum showed similar and opposite results, respectively with this study. The effect of chemicals inhibitor depends on the number of applications, environmental conditions, plant sensitivity and how it is used. The bestvisual quality was detected in cold + 150 mg/L benzyl adenine, 100 mg/L gibberellin + 150 mg/L benzyl adenine and cold + 500 mg/L paclobutrazol. Application of cold + 500 mg/L paclobutrazol showed dwarf form, compact inflorescence and widened flower diameter. Additionally, minimumvisual quality was evaluated by cold + 300 mg/L benzyl adenine which may be related to decreasing calcium uptake and subsequent lateral shoot bending.

1 and 2- Master of Science Graduate and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University

(\*- Corresponding Author Email: ajowkar@shirazu.ac.ir)

**Conclusions:** Spraying with gibberellin, benzyl adenine and paclobutrazol had a positive effect on morphological traits of cineraria and increased its growth and development. Cineraria's limited cultivation, due to its six weeks cold requirement, could be overcome by gibberellin application. Application of cold + 500 mg/L paclobutrazol increased flowers and new compact form. Generally, 100 mg/L gibberellin + 250 mg/L paclobutrazole spraying could reduce cineraria's growth period for 32 days and make a new dwarf form. Overall, 100 mg/L gibberellin + 300 mg/L benzyl adenine spraying reduced cineraria's growth period for 21 days and also increased its fresh and dry weight, fresh root weight, leaf area, plant height, stem diameter, visual quality, flower number and flower longevity compared to other treatments.

**Keywords:** Cineraria, earliness, flower longevity, visual quality



## تأثیر کاربرد اسید سالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ارقام انگور (*Vitis vinifera* L.) تحت شرایط تنش خشکی

ناصر عباسپور<sup>۱\*</sup> - لایون بابائی<sup>۲</sup> - علیرضا فرخزاد<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۲

### چکیده

به منظور بررسی اثرات تیمار اسیدسالیسیلیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو رقم نهال انگور (رشه و بیدانه سفید)، تحت شرایط تنش خشکی، پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. دوره‌های آبیاری شامل آبیاری به فواصل هر ۵ (شاهد)، ۱۰ و ۱۵ روز یک بار و تیمارهای اسیدسالیسیلیک شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱ و ۲ میلی مولار بود. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، صفات ارتفاع نهال، قطر تنه، تعداد و سطح برگ و شاخص کلروفیل کاهش معنی‌داری نسبت به تیماردور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) پیدا کرد در حالی که میزان تجمع پرولین، قندهای محلول، مالون دی آلدئید و پروتئین کل افزایش یافت. میزان ارتفاع نهال، قطر تنه، تعداد برگ، میزان پرولین و پروتئین کل در رقم رشه بیشتر از رقم بیدانه سفید بود. محلول پاشی اسیدسالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار موجب افزایش معنی‌دار صفات ارتفاع نهال، قطر تنه، تعداد و سطح برگ، شاخص کلروفیل، قندهای محلول و پروتئین کل و کاهش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید نسبت به تیمار اسیدسالیسیلیک با غلظت صفر میلی مولار (شاهد) تحت شرایط تنش خشکی گردید. به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار می‌تواند اثرات تنش خشکی بر رشد انگور را تعدیل کند و رقم رشه در مقایسه با رقم بیدانه سفید از تحمل بالاتری نسبت به تنش خشکی برخوردار است.

**واژه‌های کلیدی:** استرس کمبود آب، پرولین، تحمل، قندهای محلول، مالون دی آلدئید

### مقدمه

و ژنوتیپ‌های یک گونه گیاهی از دیدگاه صفات فیزیولوژیکی و ارتباط آن با تحمل به خشکی مورد بررسی قرار می‌گیرند (۱۹). خشکی رشد، عملکرد، نفوذپذیری غشاهای فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی و روابط آبی تنظیم اسمزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴). در مقیاس سلولی، گیاهان آثار زیان بار تنش کم آبی را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از راه تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های خود کاهش داده و فشار آماس خود را تنظیم می‌کنند. کربوهیدرات‌ها و اسید آمینه پرولین از جمله این ترکیبات هستند (۲۹). بررسی اثرات تنش خشکی بر خصوصیات رشدی و فیزیولوژیکی پنج رقم انگور (گرنی، شاهانی، موسکات گوردو، فیلم سیدلس و بیدانه سفید) نشان داده است که با افزایش شدت تنش خشکی، ارتفاع بوته، تعداد برگ و گره، سطح برگ، درصد ماده خشک برگ، میزان کلروفیل و پروتئین‌های محلول بسته به نوع رقم کاهش یافت در حالی که تجمع پرولین افزایش پیدا کرد (۵۴). افزایش میزان پرولین و قند‌های محلول در ارقام مختلف انگور تحت تنش خشکی، در

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده محیطی است که رشد و عملکرد انگور در مناطق مدیترانه ای است (۲۱). ایران با متوسط نزولات آسمانی ۲۴۰ میلی متر در سال در زمره مناطق خشک و نیمه خشک جهان قرار دارد (۶۲). که این خود نشان دهنده ضرورت توجه به بهینه سازی مصرف آب در بخش کشاورزی است (۱۹). گزینش ارقام متحمل به خشکی از راه بررسی عملکرد آن‌ها تحت تنش امکان پذیر است. اما از آن جایی که عملکرد، برآیند صفات فیزیولوژیکی گیاه می‌باشد، می‌توان از این صفات به عنوان ابزاری برای گزینش گیاهان متحمل استفاده کرد. به این منظور معمولاً ارقام

۱- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه ارومیه

\*- نویسنده مسئول: (Email: n.abbaspour@urmia.ac.ir)

۲ و ۳- فارغ التحصیل کارشناسی ارشد و استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه ارومیه

آزمایش‌های مختلف گزارش شده است (۳۲ و ۵). ترکیب فنلی اسید سالیسیلیک به عنوان یک تنظیم کننده هورمونی در گیاهان شناخته شده و نقش آن در پاسخ به مکانیسم های دفاعی در برابر عوامل زنده و غیر زنده می باشد (۶۳ و ۱۴). یافته ها و تحقیقات سال های اخیر نشان دهنده اثرات اسیدسالیسیلیک در تعدیل تنش های غیر زنده می باشد و تحقیقات زیادی در مورد اثرات اسید سالیسیلیک در واکنش های دفاعی گیاه در مقابل تنش های غیر زنده انجام شده است (۳۳). نقش اسید سالیسیلیک هم چنین به عنوان یک ماده تنظیم کننده رشد در القای تحمل به بسیاری از تنش های زیستی و غیر زیستی همچون باکتری ها، قارچ ها، ویروس ها (۲)، تنش سرما زدگی (۵۷) و تنش خشکی (۵۸) مورد توجه قرار گرفته است. در این رابطه اسید سالیسیلیک به عنوان یک مولکول پیام رسان، سبب افزایش ترکیبات دفاعی همچون پرولین و بتائین گلايسين می گردد. از طرف دیگر افزایش شاخص های رشدی با کاربرد اسید سالیسیلیک در گندم و سویا (۱۳) و ذرت (۱۸) گزارش شده است. پاسخ های متابولیکی گیاه در مقابل اسید سالیسیلیک بسته به نحوه ی کاربرد آن و نوع گیاه متفاوت است (۳۵ و ۲۶). هم چنین مشاهده شده غلظت های مناسب اسید سالیسیلیک می تواند کلروفیل و فتوسنتز کل گیاهی را در گیاهان در معرض تنش خشکی افزایش دهد (۲۳ و ۱۶). نتایج بررسی سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک (صفر، ۱ و ۲ میلی مولار) در کاهش اثرات کم آبی بر تعدادی از شاخص های رشدی گیاه همیشه بهار نشان داد که با کاهش آب آبیاری، سطح و تعداد برگ، تعداد ساقه فرعی و طول آن، وزن تر و خشک بوته، وزن خشک گل در بوته، شاخص کلروفیل، هدایت روزنه ای و عملکرد کوانتومی به طور معنی داری کاهش یافت و سطوح مختلف اسیدسالیسیلیک تاثیر معنی داری بر افزایش سطح و تعداد برگ، وزن تر و خشک بوته، تعداد ساقه فرعی و تعداد گل در بوته، شاخص کلروفیل، عملکرد کوانتومی، وزن خشک بذر و تعداد بذر در بوته داشت (۴۹).

هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر تنش آبی از طریق اندازه گیری برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی و اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک در کاهش اثرات زیان بار تنش خشکی و شناخت مکانیسم های احتمالی مقاومت به خشکی در دو رقم انگور رشه و بیدانه سفید بوده است.

## مواد و روش ها

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در دو واحد آزمایشی (هر واحد آزمایشی شامل دو گلدان و در هر گلدان یک نهالو در مجموع ۱۰۸ نهال) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام گردید. در این پژوهش نهال های دوساله انگور رقم رشه و بیدانه سفید انتخاب و در گلدان های پلاستیکی با گنجایش ۷ لیتر و ارتفاع ۲۴

سانتی متر و مخلوط خاکی شامل ۲ قسمت خاک معمولی، ۱ قسمت خاک برگ و ۱ قسمت ماسه مورد استفاده قرار گرفت. پس از طی مرحله استقرار به مدت سه ماه، اعمال تیمارها آغاز گردید. طی آزمایش، متوسط رطوبت نسبی ۴۵ درصد و دمای حداقل و حداکثر گلخانه به طور متوسط ۱۷ و ۴۰ درجه سانتی گراد بود. فاکتور اول شامل ۲ رقم رشه و بیدانه سفید، فاکتور دوم شامل دوره های آبیاری هر ۵ (شاهد)، ۱۰ و ۱۵ روز یک بار (۶۰) و فاکتور سوم اسیدسالیسیلیک با غلظت های صفر (شاهد)، ۱ و ۲ میلی مولار بود. تعداد تیمارها در هر واحد آزمایشی ۵۴ عدد بود. در هر بار آبیاری، به ازای هر نهال، ۱ لیتر آب مصرف گردید. اولین محلول پاشی اسیدسالیسیلیک هم زمان با شروع دوره های آبیاری اعمال گردید و برای حفظ اثرات اسید سالیسیلیک، محلول پاشی بعدی هر ۱۵ روز بعد از اولین محلول پاشی انجام گرفت. در هر بار محلول پاشی از هر غلظت، ۲ لیتر محلول اسیدسالیسیلیک تهیه و به ازای هر نهال، ۰/۰۵۵ لیتر (۰/۰۵۵ سانتی متر مکعب) محلول مصرف گردید. به منظور اندازه گیری ارتفاع نهال، نسبت رشد طولی نهال ها در ابتدا و انتهای آزمایش با استفاده از خط کش اندازه گیری شد و اختلاف ارتفاع آن ها محاسبه گردید. به منظور ایجاد یکنواختی بین مقایسات از فرمول کرامر و همکاران (۹) استفاده گردید.

$100 \times \left[ \frac{\text{رشد طولی اولیه}}{\text{رشد طولی ثانویه}} - \text{رشد طولی اولیه} \right]$

(اولیه) = (سانتی متر) نسبت رشد طولی ساقه (۱)

صفات قطر ساقه (توسط کولیس دیجیتال مدل NO:Z ۲۲۸۵۵)، تعداد برگ، سطح برگ (توسط دستگاه اندازه گیری سطح برگ Leaf Area Meter مدل AM200) اندازه گیری گردید. جهت اندازه گیری سطح برگ در هر نهال، سه برگ کوچک، متوسط و بزرگ را انتخاب و پس از اندازه گیری سطح آن ها توسط دستگاه، مقدار به دست آمده در تعداد کل برگ های آن نهال ضرب و عدد نهایی، سطح برگ یک نهال گردید. شاخص کلروفیل برگ ها، در پایان آزمایش با دستگاه سنجش محتوی کلروفیل (مدل MINOLTA 502, Osaka Japan) اندازه گیری گردید. به منظور تعیین غلظت پرولین از روش پاکوین و لچسر (۵۱) استفاده شد. به ۱ میلی لیتر از عصاره الکلی تهیه شده از بافت تازه برگی که به روش ایریگوین و همکاران تهیه شده بود (۳۰)، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر، ۵ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۵ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال افزوده، به مدت ۴۵ دقیقه در بن ماری با دمای جوش قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه ها، ۱۰ میلی لیتر بنزن به هر کدام از نمونه ها اضافه کرده و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. استانداردهایی از پرولین از غلظت صفر تا ۰/۱ میکرومول بر لیتر تهیه گردید و در نهایت میزان جذب محلول های استاندارد و نمونه ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل S2100) اندازه گیری گردید. به منظور اندازه گیری میزان قندهای محلول از روش ایریگوین و همکاران (۲۸) استفاده



استفاده از نرم افزار SAS سری ۹/۱ و روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel سری ۲۰۱۰ استفاده گردید.

### نتایج

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، اثرات متقابل سه گانه رقم، اسید سالیسیلیک و خشکی بر میزان ارتفاع نهال معنی دار بود. با افزایش دوره‌های آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار، میزان ارتفاع نهال در هر دو رقم کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد (دور آبیاری هر ۵ روز یک بار) پیدا کرد و روند کاهش ارتفاع در رقم رشه کمتر از رقم بیدانه سفید بود. کاربرد اسید سالیسیلیک موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع نهال نسبت به تیمار شاهد در هر دو رقم گردید. تیمار اسیدسالیسیلیک با غلظت ۱ و ۲ میلی مولار در دوره‌های آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد)، بیشترین تأثیر را در افزایش ارتفاع نهال‌ها داشت و میزان تأثیر آن در رقم رشه بیشتر از رقم بیدانه سفید بود. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین ارتفاع نهال در رقم رشه با دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) و غلظت ۱ و ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک و کمترین ارتفاع نهال در رقم بیدانه سفید با دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار و غلظت صفر میلی مولار اسید سالیسیلیک (شاهد) حاصل گردید (شکل ۱).

گردید. به ۰/۱ میلی لیتر از عصاره الکلی، ۳ میلی لیتر انترون تازه افزوده شد. سپس لوله‌های آزمایش را به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری قرار داده شد. پس از خنک شدن نمونه‌ها، میزان جذب آن‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از گلوکز به عنوان محلول استاندارد در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

میزان قندهای محلول (۲)

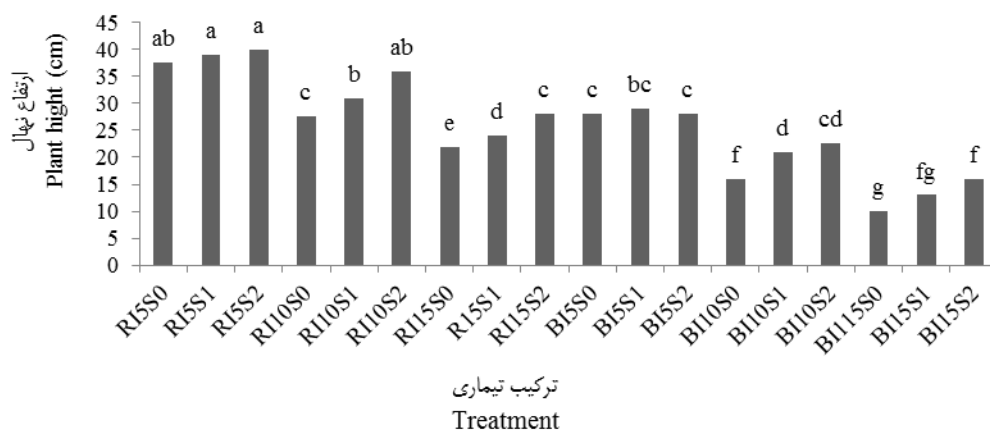
$$(FW \text{ mg/g}) = (OD_{625} + 0.0533) / 0.004$$

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید به روش اسپکتروفتومتری (۲۵)

انجام گردید. به مخلوط سائیده شده بافت تازه برگ‌گی و تری کلرو استیک اسید پس از سانتریفیوژ، محلول TCA اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در حمام آب جوش حرارت داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید و شدت جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گیاه ارائه گردید. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل، از روش برد فورد استفاده شد (۶). در نهایت شدت رنگ به وسیله اسپکتروفتومتر با استفاده از آلبومین سرم گاوی به عنوان محلول استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت و نتایج بر اساس میلی گرم در گرم وزن تر بیان گردید.

$$\text{پروتئین کل (۳)} = (OD_{595} - 0.0345) / 1.7333$$

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده با



شکل ۱- برهمکنش سطوح مختلف خشکی × اسیدسالیسیلیک بر ارتفاع نهال دو رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). (حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد). R: رشه، B: بیدانه سفید، S0: اسیدسالیسیلیک صفر میلی مولار (شاهد)، S1: اسیدسالیسیلیک ۱ میلی مولار، S2: اسیدسالیسیلیک ۲ میلی مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز (شاهد)، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز

Figure 1- Interaction effect of drought × salicylic acid level on plant height of two Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.). Columns with the same letters are not significantly different at 1% probability level using Duncan's Multiple Range Test (DMRT). R: Rasheh, B: BidaneSefid, S0: salicylic acid 0 mM, S1: salicylic acid 1 mM, S2: salicylic acid 2 mM, I5: Irrigation interval 5 day, I10: Irrigation interval 10 day, I15: Irrigation interval 15 day

خشکی، تقسیمات میتوزی، طویل شدن و توسعه سلول‌ها را تحت تاثیر قرار داده، نهایتاً منجر به کاهش رشد و عملکرد محصول می‌گردد (۲۸). با کاهش رشد سلول، اندازه‌ی اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم‌آبی بر روی گیاهان را می‌توان از روی اندازه‌ی کوچکتر برگ‌ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد (۲۷). کاهش ارتفاع گیاه ممکن است به دلیل کاهش رشد و بزرگ شدن سلول‌ها و حساسیت بیشتر برگ‌ها در گیاهان تحت تنش خشکی باشد (۴۴). کاهش ارتفاع نهال در اثر تنش خشکی و مقاومت بیشتر ارقام مقاوم به کاهش ارتفاع در شرایط تنش خشکی توسط محققان دیگر گزارش شده است (۳، ۳۲، ۶۵). اسید سالیسیلیک با ممانعت از کاهش اکسین و سیتوکینین در گیاه، موجب افزایش تقسیمات سلولی و رشد گیاه می‌گردد (۲۴). پژوهش‌ها نشان داده است که میزان جذب عناصری مانند منیزیم، کلسیم، پتاسیم، فسفر و نیتروژن در گیاهان تحت تنش خشکی تیمار شده با اسید سالیسیلیک افزایش می‌یابد (۶۲). از طرف دیگر اسید سالیسیلیک می‌تواند از جذب بیش از حد آنیون‌های سمی مانند بور، کلر و سدیم در شرایط خشکی و شوری جلوگیری نماید (۱۳). این افزایش در جذب عناصر غذایی و کاهش در جذب عناصر سمی می‌تواند عامل افزایش رشد و در نتیجه ارتفاع گیاه باشد. تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک در افزایش ارتفاع گیاه توسط سان میگوئیل و همکاران (۵۶) در گیاهچه‌های کاج، قاسم زاده و جعفر (۲۰) در زنجبیل و مردانی و همکاران (۴۵) در خیار گزارش گردیده است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات متقابل خشکی در رقم و خشکی در اسید سالیسیلیک بر میزان صفات قطر تنه، تعداد و سطح برگ معنی دار بود در حالی که اثر متقابل اسید سالیسیلیک در رقم تاثیر معنی داری بر صفات مذکور نداشت. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به بررسی اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و رقم قطر تنه، تعداد و سطح برگ نشان داد که با افزایش تنش خشکی (دوره‌های آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)، قطر تنه، تعداد و سطح برگ در هر دو رقم رشه و بیدانه سفید، کاهش معنی داری نسبت به تیمار دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) پیدا کرد و روند کاهش در رقم بیدانه سفید بیشتر از رقم رشه بود (جدول ۱). بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین میزان صفات قطر تنه، تعداد و سطح برگ در دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) و تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار و کمترین میزان قطر تنه، تعداد و سطح برگ در دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار و تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت صفر میلی مولار (شاهد) مشاهده گردید. در شرایط دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد)، تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱ و ۲ میلی مولار تاثیر معنی داری بر قطر تنه، تعداد و سطح برگ نداشت اما با افزایش تنش خشکی (دوره‌های آبیاری ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)،

سطوح تیمار اسید سالیسیلیک ۱ و ۲ میلی مولار موجب افزایش قطر تنه، تعداد و سطح برگ گردید. محلول پاشی با غلظت ۲ میلی مولار اسید سالیسیلیک در شرایط بدون تنش (دور آبیاری هر ۵ روز یک بار) بیشترین تاثیر را در افزایش قطر تنه، تعداد و سطح برگ در هر دو رقم داشت (جدول ۱). بین رشد قطر تنه و میزان رطوبت خاک ارتباط نزدیک وجود دارد. در شرایط خشکی، ذخیره آبی گیاهان در طی شب به طور کامل تامین نمی‌شود و این موضوع منجر به کاهش تدریجی قطر تنه انگور می‌شود (۷ و ۶۱). پدیده کاهش رشد قطری تنه در اثر تنش خشکی توسط محققان دیگر مانند کواس و همکاران (۱۰) و فالتون و ریچارد (۱۷) نیز گزارش گردیده است. کاهش رشد سلول‌ها در اثر کم آبی، در درجه‌ی اول باعث کاهش رشد برگ می‌گردد. در شرایط کم آبی جذب مواد و عناصر غذایی کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه‌ی برگ‌ها محدود می‌شود. با کاهش سطح برگ، گیاه آب کمتری را از طریق تعرق از دست می‌دهد. بنابراین محدود شدن سطح برگ را می‌توان به عنوان اولین مکانیسم دفاعی گیاه در برابر خشکی در نظر گرفت (۴۶). کاهش تعداد و سطح برگ در انگور تحت تاثیر تنش خشکی توسط محققان دیگر نیز گزارش گردیده است (۳۹، ۶۴، ۶۷). اسید سالیسیلیک با فعال کردن آنزیم‌های دفاعی و تقویت دیواره سلولی باعث تجمع ترکیبات فنلی و لیگنین و افزایش قطر تنه می‌شود و این موضوع می‌تواند ناشی از فعال شدن آنزیم فنیل آلانین آمونیا لاز<sup>۱</sup> توسط اسید سالیسیلیک باشد (۲۰، ۴۳). تاثیر کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در افزایش قطر تنه توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (۳۸، ۵۶، ۶۶). هم چنین، اسید سالیسیلیک با محافظت سیستم ریشه‌ای از اثرات مضر تنش خشکی، موجب افزایش سیستم ریشه‌ای و ظرفیت جذب آب و مواد غذایی و در نهایت افزایش رشد گیاه می‌گردد که این افزایش رشد با افزایش تولید برگ‌های جدید و افزایش سطح کل برگ همراه خواهد بود (۲۲ و ۳۷).

نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از معنی دار بودن اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و رقم بر میزان شاخص کلروفیل و پرولین بود. با افزایش تنش خشکی (دوره‌های آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)، میزان شاخص کلروفیل کاهش و میزان پرولین در هر دو رقم رشه و بیدانه سفید نسبت به تیمار شاهد (دور آبیاری هر ۵ روز یک بار) افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان شاخص کلروفیل در رقم رشه با دور آبیاری هر ۵ روز یک بار و بیشترین میزان پرولین در رقم رشه با دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار مشاهده گردید (جدول ۱). در اثر خشکی، ساختار کلروپلاست به دلیل عدم پایداری رنگیزه پروتئینی، آسیب می‌بیند زیرا پیش ماده ساخت آن یعنی گلوتامات، صرف تولید اسید آمینه پرولین می‌شود. گلوتامین کیناز، آنزیم سازنده

پروپولین در کلروپلاست قرار دارد و تنش خشکی برای فعال شدن این آنزیم اثر تحریک کننده دارد در حالی که مانع سنتز آنزیم گلوتامات

جدول ۱- برهمکنش سطوح مختلف خشکی × اسید سالیسیلیک بر برخی صفات رشدی و فیزیولوژیکی دو رقم انگور (*Vitis vinifera* L.)  
Table 1-Interaction effect of drought × salicylic acid levels on some morphological and physiological characteristics of two grape cultivars (*Vitis vinifera* L.)

| تیمارها *<br>*Treatments | قطر تنه<br>Stem diameter<br>(mm) | تعداد برگ<br>Leaf number | سطح برگ<br>Leaf area<br>(cm <sup>2</sup> ) | شاخص کلروفیل<br>Chlorophyll index<br>(SPAD) | پروپولین<br>Prolin<br>(mg. g FW) | مالون دی<br>آلدهید<br>Malondialdehyde<br>(μmol/g FW) | پروتئین کل<br>Total Protein<br>(mg.g<br>FW) |
|--------------------------|----------------------------------|--------------------------|--|---|----------------------------------|--|---|
| I5× R                    | 6.07 <sup>ab</sup>               | 22.77 <sup>a</sup>       | 128.77 <sup>bc</sup>                       | 37.189 <sup>a</sup>                         | 2.079 <sup>d</sup>               | 0.384 <sup>d</sup>                                   | 0.231 <sup>b</sup>                          |
| I10× R                   | 5.92 <sup>ab</sup>               | 19.88 <sup>a</sup>       | 115.92 <sup>bc</sup>                       | 34.033 <sup>b</sup>                         | 3.423 <sup>cd</sup>              | 0.481 <sup>c</sup>                                   | 0.249 <sup>b</sup>                          |
| I15× R                   | 4.07 <sup>c</sup>                | 13.66 <sup>b</sup>       | 91.14 <sup>d</sup>                         | 31.578 <sup>b</sup>                         | 6.294 <sup>a</sup>               | 0.555 <sup>bc</sup>                                  | 0.265 <sup>a</sup>                          |
| I5× B                    | 6.578 <sup>a</sup>               | 15.33 <sup>b</sup>       | 173.55 <sup>a</sup>                        | 33.678 <sup>ab</sup>                        | 2.318 <sup>d</sup>               | 0.375 <sup>d</sup>                                   | 0.218 <sup>d</sup>                          |
| I10× B                   | 5.212 <sup>b</sup>               | 13.11 <sup>b</sup>       | 137.09 <sup>b</sup>                        | 27.078 <sup>c</sup>                         | 3.780 <sup>c</sup>               | 0.599 <sup>b</sup>                                   | 0.224 <sup>c</sup>                          |
| I15× B                   | 3.003 <sup>d</sup>               | 9.44 <sup>c</sup>        | 123.012 <sup>cd</sup>                      | 23.789 <sup>c</sup>                         | 5.557 <sup>b</sup>               | 0.812 <sup>a</sup>                                   | 0.238 <sup>b</sup>                          |
| SA0× R                   | 4.9a                             | 20.221a                  | 122.15a                                    | 30.489bc                                    | 3.420a                           | 0.473a   | 0.251a                                      |
| SA1× R                   | 5.218a                           | 19.543a                  | 124.225a                                   | 32.633b                                     | 3.455a                           | 0.467a   | 0.257a                                      |
| SA2× R                   | 5.951a                           | 20.021a                  | 122.412a                                   | 39.678a                                     | 3.120a                           | 0.480a   | 0.262a                                      |
| SA0× B                   | 4.676a                           | 20.115a                  | 122.88a                                    | 26.62c                                      | 2.709a                           | 0.505a   | 0.254a                                      |
| SA1× B                   | 4.766a                           | 20.64a                   | 124.593a                                   | 27.078c                                     | 2.403a                           | 0.563a   | 0.259a                                      |
| SA2× B                   | 5.351a                           | 20.924a                  | 124.172a                                   | 30.844bc                                    | 2.589a                           | 0.578a   | 0.259a                                      |
| I5× SA0                  | 6.58 <sup>a</sup>                | 20.11 <sup>ab</sup>      | 153.43 <sup>ab</sup>                       | 30.489 <sup>a</sup>                         | 3.323 <sup>a</sup>               | 0.343 <sup>d</sup>                                   | 0.241 <sup>d</sup>                          |
| I10× SA0                 | 4.661 <sup>b</sup>               | 14 <sup>d</sup>          | 118.531 <sup>cd</sup>                      | 27.293 <sup>b</sup>                         | 3.441 <sup>a</sup>               | 0.655 <sup>cb</sup>                                  | 0.300 <sup>cd</sup>                         |
| I15× SA0                 | 2 <sup>d</sup>                   | 8.66 <sup>c</sup>        | 75.511 <sup>c</sup>                        | 24.711 <sup>c</sup>                         | 2.912 <sup>a</sup>               | 0.889 <sup>a</sup>                                   | 0.372 <sup>bc</sup>                         |
| I5× SA1                  | 6.108 <sup>a</sup>               | 20.16 <sup>ab</sup>      | 155.48 <sup>ab</sup>                       | 31.633 <sup>a</sup>                         | 2.901 <sup>a</sup>               | 0.334 <sup>d</sup>                                   | 0.260 <sup>d</sup>                          |
| I10× SA1                 | 5.56 <sup>a</sup>                | 14.83 <sup>d</sup>       | 119.17 <sup>cd</sup>                       | 28.098 <sup>b</sup>                         | 3.141 <sup>a</sup>               | 0.603 <sup>cd</sup>                                  | 0.301 <sup>cd</sup>                         |
| I15× SA1                 | 2.985 <sup>c</sup>               | 10.33 <sup>cd</sup>      | 96.95 <sup>de</sup>                        | 26.112 <sup>bc</sup>                        | 2.898 <sup>a</sup>               | 0.733 <sup>b</sup>                                   | 0.376 <sup>bc</sup>                         |
| I5× SA2                  | 6.285 <sup>a</sup>               | 20.88 <sup>ab</sup>      | 170.51 <sup>a</sup>                        | 31.087 <sup>a</sup>                         | 3.212 <sup>a</sup>               | 0.331 <sup>d</sup>                                   | 0.247 <sup>d</sup>                          |
| I10× SA2                 | 6.05a                            | 20.66 <sup>ab</sup>      | 141.81 <sup>bc</sup>                       | 30.712 <sup>a</sup>                         | 3.017 <sup>a</sup>               | 0.551 <sup>cd</sup>                                  | 0.420 <sup>ab</sup>                         |
| I15× SA2                 | 4.618 <sup>b</sup>               | 15.66 <sup>bc</sup>      | 129.27 <sup>bc</sup>                       | 29.365 <sup>ab</sup>                        | 3.181 <sup>a</sup>               | 0.651 <sup>c</sup>                                   | 0.492 <sup>a</sup>                          |

R\*: رشه، B: بیدانه سفید، S0: اسید سالیسیلیک صفر میلی مولار (شاهد)، S1: اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار، S2: اسید سالیسیلیک ۲ میلی مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز (شاهد)، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز.

\*\*حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

\*R: Rasheh, B: Bidane Sefid, S0: salicylic acid 0 mM, S1: salicylic acid 1 mM, S2: salicylic acid 2 Mm, I5: Irrigation interval 5 day, I10: Irrigation interval 10 day, I15: Irrigation interval 15 day.

\*\*Columns with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

شاخص کلروفیل نسبت به تیمار شاهد (دور آبیاری ۵ روز یک بار) کاهش یافت و کاربرد محلول پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت های ۱ و ۲ میلی مولار موجب افزایش معنی دار شاخص کلروفیل در دوره های آبیاری ۱۰ و ۱۵ روز یک بار گردید (جدول ۱). اسید سالیسیلیک با جلوگیری از فعالیت آنزیم های کلروفیل اکسیداز، مانع تجزیه کلروفیل شده و از این طریق سبب افزایش رشد در فتوسنتز می شود (۴۵). هم چنین محلول پاشی اسیدسالیسیلیک باعث افزایش تثبیت دی اکسید کربن و فتوسنتز گردیده و از رنگبزه های فتوسنتزی محافظت می کند (۲۱). تحقیقات نشان داده است که صرف نظر از غلظت اسیدسالیسیلیک و میزان تنش خشکی، گیاهان تیمار شده با اسیدسالیسیلیک در مقایسه با گیاهان تیمار نشده حاوی رطوبت، ماده

افزایش پروپولین تحت تاثیر تنش خشکی توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (۱، ۳۶، ۴۲، ۵۰، ۵۲). هم چنین، بر اساس نتایج مقایسه میانگین های مربوط به تاثیر معنی دار اثرات متقابل رقم در اسید سالیسیلیک و سطوح مختلف خشکی در اسید سالیسیلیک، بر شاخص کلروفیل، محلول پاشی اسیدسالیسیلیک با غلظت های ۱ و ۲ میلی مولار موجب افزایش معنی دار میزان شاخص کلروفیل نسبت به تیمار شاهد در هر دو رقم رشه و بیدانه سفید گردید. به طوری که رقم رشه با تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار و رقم بیدانه سفید با تیمار اسیدسالیسیلیک با غلظت های صفر و ۱ میلی مولار، به ترتیب، دارای بیشترین و کمترین میزان شاخص کلروفیل بود. علاوه بر این، با افزایش تنش خشکی (دوره های آبیاری ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)

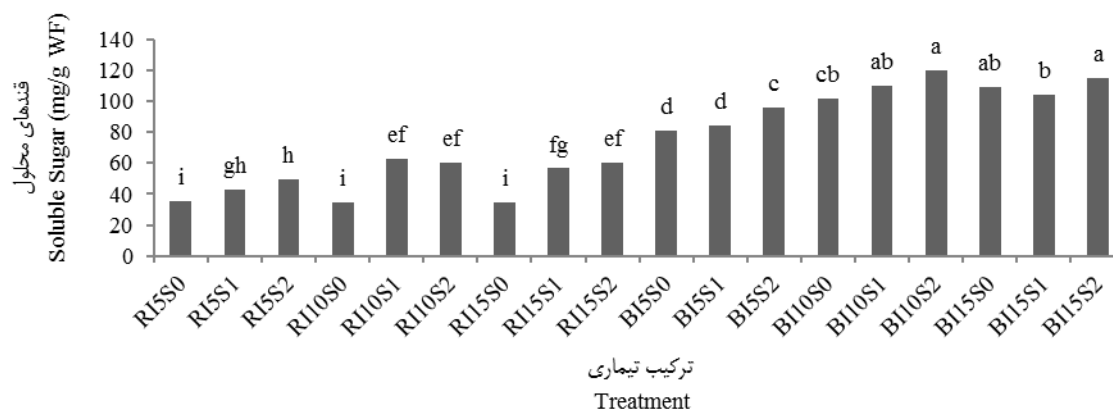
خشک و کلروفیل بیشتری بوده و میزان فعالیت سوپر اکسید دسموتاز و کربوکسیلاز (مربوط به رابیسکو) بیشتری نشان دادند (۵۹). نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از معنی دار بودن اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و رقم بر میزان شاخص کلروفیل و پروکلین بود. با افزایش تنش خشکی (دوره‌های آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)، میزان شاخص کلروفیل کاهش و میزان پروکلین در هر دو رقم رشه و بیدانه سفید نسبت به تیمار شاهد (دور آبیاری هر ۵ روز یک بار) افزایش یافت، به طوری که بیشترین میزان شاخص کلروفیل در رقم رشه با دور آبیاری هر ۵ روز یک بار و بیشترین میزان پروکلین در رقم رشه با دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار مشاهده گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و رقم بر میزان مالون دی آلدئید و پروتئین کل نشان داد که با افزایش تنش خشکی (دوره‌های آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار)، میزان مالون دی آلدئید کاهش و میزان پروتئین کل افزایش معنی داری نسبت به تیمار شاهد پیدا کرد. بیشترین میزان مالون دی آلدئید در رقم بیدانه سفید با دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار و کمترین میزان مالون دی آلدئید در رقم رشه و بیدانه سفید با دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) مشاهده گردید. هم چنین، میزان پروتئین کل در رقم رشه با دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار و در رقم رشه و بیدانه سفید با دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان را دارا بود. علاوه بر این، بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر متقابل سطوح مختلف خشکی و اسید سالیسیلیک بر میزان مالون دی آلدئید و پروتئین کل، محلول پاشی اسید سالیسیلیک موجب کاهش مالون دی آلدئید و افزایش میزان پروتئین کل نسبت به تیمار شاهد گردید و تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار در دور آبیاری هر ۱۵ روز یک بار، به ترتیب، موجب کاهش میزان مالون دی آلدئید و افزایش پروتئین کل گردید (جدول ۱). اتیلن یک هورمون گیاهی است که مقدار آن در هنگام تنش‌های محیطی زیاد می‌شود (۱۱). اتیلن با تحریک تولید رادیکال‌های سوپر اکسید باعث پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (۱۵، ۲۵، ۴۷ و ۵۵). اسیدسالیسیلیک به دلیل داشتن گروه هیدروکسیل آزاد روی حلقه بنزوئیک اسید ساختمان خود، قادر به شلاته کردن فلزات است. بنابراین با شلاته کردن آهن موجود در آنزیم ACC اکسیداز، موجب بلوکه کردن آن و در نهایت مهار سنتز اتیلن می‌گردد (۴۰، ۵۳). همچنین اسیدسالیسیلیک با فعال کردن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دسموتاز موجب حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردد (۲۴). پروتئین‌های محلول، در تنش خشکی از تولید پروتئین‌های تنشی حاصل شده باشد که این پروتئین‌های جدیداً سنتز شده به اسمولیت‌های سازگار در تنظیم اسمزی کمک می‌کنند و می‌توانند وظایفی مشابه پروکلین یا قندهای محلول انجام دهند (۴۸). پروتئین‌های فراوان در اواخر جنین

زایی<sup>۱</sup> به خصوص گروه II آن‌ها یعنی دهیدرین‌ها نقش مهمی در محافظت گیاه بر علیه تنش خشکی دارند. آن‌ها پتانسیل بسیار بالایی برای دهیدراسیون دارند که معادل چندین برابر بیشتر از آنچه در پروتئین‌های نرمال مشاهده می‌شود، می‌باشد و به خاطر این خصوصیات ویژه، دهیدرین‌ها به ماکرومولکول‌های درون سلولی ملحق می‌شوند و اطراف آن‌ها ایجاد لایه آب می‌کنند یا با گروه‌های سطحی پروتئین‌های دیگر واکنش داده و آن‌ها را از اثرات تنش آبی محافظت می‌کنند (۸). گروه دیگری از پروتئین‌های مربوط به تنش خشکی پروتئین‌های شوک گرمایی<sup>۲</sup> هستند. این پروتئین‌ها نیز به عنوان چاپرون‌های (محافظ یا همراه) مولکولی عمل می‌کنند و احتمالاً در پیچش و انتقال پروتئین‌ها دخالت دارند (۳۴). بررسی‌ها نشان می‌دهد که اسیدسالیسیلیک می‌تواند باعث افزایش بیان انواع پروتئین‌های شوک گرمایی که در شرایط تنش هم تولید می‌شود، گردد (۴۱). هم چنین، گزارش شده اسیدسالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز موجب افزایش ازت و پروتئین در گیاه می‌شود (۵۹). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثرات متقابل سه گانه رقم، سطوح مختلف خشکی و اسیدسالیسیلیک بر میزان قندهای محلول نشان داد که با افزایش فواصل آبیاری، میزان قندهای محلول در رقم بیدانه سفید افزایش معنی داری نسبت به تیمار دور آبیاری هر ۵ روز یک بار (شاهد) پیدا کرد در حالی که در رقم رشه، با افزایش تنش خشکی، انباشت قندهای محلول تغییر معنی داری مشاهده نگردید و بیانگر این مسئله است که رقم بیدانه سفید در مواجهه با تنش خشکی، به وسیله تنظیم اسمزی و افزایش ترکیبات اسمزی نظیر قندهای محلول، فشار تورژانس سلول‌ها را حفظ می‌کند. اما رقم رشه در مواجهه با تنش خشکی، از مکانیسم‌های دیگری نظیر تجمع پروکلین بهره می‌برد که با نتایج محققان دیگر در انگور مطابقت دارد (۱۹ و ۳۲). علاوه بر این، کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار در دوره‌های آبیاری هر ۵، ۱۰ و ۱۵ روز یک بار موجب افزایش میزان قندهای محلول در هر دو رقم گردید. بیشترین میزان قندهای محلول در رقم بیدانه سفید با دور آبیاری هر ۱۰ و ۱۵ روز یک بار و غلظت ۲ میلی مولار اسیدسالیسیلیک و کمترین میزان قندهای محلول در رقم رشه با دور آبیاری هر ۵، ۱۰ و ۱۵ روز یک بار و غلظت صفر میلی مولار اسیدسالیسیلیک (شاهد) حاصل گردید (شکل ۳).

اسیدسالیسیلیک مصرف متابولیت‌هایی مانند قندهای محلول را برای ساختن سلول‌های جدید و تحریک و افزایش رشد و نمو فعال می‌کند (۱۲).

1-Late Embryogenesis Abundant (LEA)

2- Heat Shock Proteins (HSP)



شکل ۳- برهمکنش سطوح مختلف خشکی × اسید سالیسیلیک بر میزان قندهای محلول میوه دو رقم انگور (*Vitisvinifera L.*). ستون های دارای حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چند دامنه ای دانکن ندارد. R: رشه، B: بیدانه سفید، S0: اسید سالیسیلیک صفر میلی مولار (شاهد)، S1: اسید سالیسیلیک ۱ میلی مولار، S2: اسید سالیسیلیک ۲ میلی مولار، I5: دور آبیاری ۵ روز (شاهد)، I10: دور آبیاری ۱۰ روز، I15: دور آبیاری ۱۵ روز

Figure 3- Interaction effect of drought×salicylic acid levels on soluble sugar content of two grape cultivars (*Vitisvinifera L.*). Columns with the same letters are not significantly different at 1% probability level using Duncan's Multiple Range Test (DMRT). R: Rasheh, B: BidaneSefid, S0: salicylic acid 0 mM, S1: salicylic acid 1 mM, S2: salicylic acid 2 mM, I5: Irrigation interval 5 day, I10: Irrigation interval 10 day, I15: Irrigation interval 15 day

حداقل برساند. به طور کلی، کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت ۲ میلی مولار باعث بهبود خصوصیات بیوشیمیایی از جمله قندهای محلول و پروتئین کل در انگور گردید. از برآیند نتایج پژوهش حاضر می توان نتیجه گیری نمود که رقم رشه دارای قابلیت بالاتری برای تحمل به شرایط تنش خشکی در مقایسه با رقم بیدانه سفید می باشد.

### نتیجه گیری کلی

گیاه انگور برای مقابله با تنش خشکی از مکانیسم های مختلفی از جمله کاهش ارتفاع نهال، قطر تنه، تعداد و سطح برگ و افزایش ترکیبات اسمزی مانند پرولین، قندهای محلول کل و پروتئین کل بهره می گیرد. رقم رشه با به کار بستن بیشتر مکانیسم های فوق توانسته است اثرات منفی خشکی را در مقایسه با رقم بیدانه سفید به

### منابع

- 1- Abdel-Nasser L. E., and Abdel-Aali A. E. 2002. Effect of elevated CO<sub>2</sub> and drought on proline metabolism and growth of safflower (*Carthamus mareoticus L.*) seedlings without improving water status. Pakistan Journal of Biological Sciences, 5:523-528.
- 2- Al-Hakimi A.M.A. 2008. Effect of salicylic acid on biochemical changes in wheat plants under khat leaves residues. Plant Soil and Environment Journal, 54: 288-293.
- 3- Arji A., Arzani K., and Ebrahimzadeh H. 2004. Quantitative study of proline and soluble sugar in 5 varieties of olive under drought stress. Iranian Journal of Biology, 16(4): 85-92. (in Persian)
- 4- Benjamin J. G., Nielsen D. C., 2006. Water deficit effects on root distribution of soybean, field pea and chickpea. Field Crops Research, 97:248-253.
- 5- Bertamini M., Zulini L., Muthuchelian K. and Nedunchezian N. 2006. Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera L.* cv. Riesling) plants. Photosynthetica, 44(1): 151-154.
- 6- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein dye bandung. The Annual Review of Biochemistry, 72: 248-254.
- 7- Christensen, L. P., 2000. Raisin Production Manual. University of California, Agriculture and Natural Resources.
- 8- Close T. J. 1996. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. Journal of

- Plant Physiology, 97: 795-803.
- 10- Cramer G. R., Lauchl A., and Epstein E. 1986. Effect of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on ion activities in complex nutrient solution and root growth of cotton. *Journal of Plant Physiology*, 81: 792-797.
  - 11- Cuevas M. V., Torres-Ruiz J. M., Alvarez R., Jimenez M. D., Cuerva L., and Fernandez J. E. 2010. Assessment of trunk diameter variation derived indices as water stress indicators in mature olive trees. *Agricultural Water Management*, 97:1293–1302.
  - 12- Devlin M. R. and Withman F. H. 2002. *Journal of Plant Physiology*. CBS Publishers & distributors, Chapter 12.
  - 13- El-Tayeb M. A. 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45: 215-224.
  - 14- Eraslan F., Inal A., Gunes A., and Alpaslan M. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Scientia Horticulturae*, 113: 120–128.
  - 15- Erdal S., Aydin M., Genisel M., Taspinar M. S., Dumlupinar R., Kaya O and Gorcek z. 2011. Effects of salicylic acid on wheat salt sensitivity. *African Journal of Biotechnology*, 10(30): 5713-5718.
  - 16- Faragher J. D., and Brohier R. L. 1984. Anthocyanin accumulation in apple skin during ripening: Regulation by ethylene and phenylalanine ammonia-lyase. *Scientia Horticulturae*, 22: 89-96.
  - 17- Fariduddin Q., Hayat S., and Ahmad A. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in Brassica Juncea. *Journal of Photosynthetic*, 41: 281-284.
  - 18- Fulton A., and Richard B. 2005. The effect of water stress on walnut tree growth, productivity and economics. *Acta Horticulturae*, 65: 125-132.
  - 19- Garcia M.G., Busso C.A., Polci P., Garcia L.N., and Echenique V. 2002. Water relation and leaf growth rate of three Agropyron genotypes under water stress. *Biology of Cell*, 26:309-317.
  - 20- Ghaderi N., Siosemardeh A., and Shahoei., S. 2005. The effect of water stress on some physiological characteristics in Rasheh and Khoshnave grape cultivars. *Acta Horticulture*, 754: 317-322.
  - 21- Ghasemzadeh A. and Jaafar H. Z. E., 2013. Interactive effect of salicylic acid on some physiological features and antioxidant enzymes activity in ginger (*Zingiber officinale Roscoe* L.). *Molecules*, 18: 5965-5979.
  - 22- Gomez del Campo M., Baeza P., Ruiz C., and Lissarrague J. R. 2004. Water Stress Induced Physiological Changes in Leaves of Four Container-grown Grapevine Cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 43: 99-105.
  - 23- Hasani A., Omidbeygi R., and Sharif Abad H. 2004. Evaluation of drought resistance indices in the basil plant. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 10(4): 74-65. (in Persian with English abstract)
  - 24- Hayat S., Fariduddin Q., Ali B., and Ahmad A., 2005. Effect of salicylic acid on growth and enzyme activities of wheat seedling. *Agronomy Journal*, 53: 433-437.
  - 25- Hayat Q., Hayat S., Irfan M., and Ahmad A. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*, 68: 14-25.
  - 26- Heath R. L. and Pacher L. 1969. Photo peroxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125:189-198.
  - 27- Horvath E., Szalai G., and Janda T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signalling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26: 290 – 300.
  - 28- Hsiao, T.C. (1973). Plant response to water stress. *Journal of Plant Physiology*, 24: 516-570.
  - 29- Hussain, M., Malik, M. A., Farooq, M., Ashraf, M. Y., and Cheema, M. A. (2008). Improving drought tolerance by exogenous application of glycine-betaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194: 193-199.
  - 30- Ingram J., and Bartels D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47: 337-403.
  - 31- Irigoyen J. J., Emerich D.W. and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Journal of Plant Physiology*, 84: 55-60.
  - 32- Jalili Marandi R. 2010. Environmental stress physiology and resistance mechanisms in plants garden (fruit trees, vegetables, ornamental plants and medicinal plants). Press SID, West Azarbaijan. Iran.
  - 33- Jalili Marandi R., Hasani A., Dovlati Baneh H., Azizi H., and Haji Taghiloo R. 2011. Effect of Different Levels of Soil Moisture on the Morphological and Physiological Characteristics of Three Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 42 (1): 40-31. (in Persian)
  - 34- Janda T., Horvath E., Szalai G., and Paldi E. 2007. Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: *Salicylic acid: a plant hormone*. Hayat S., and Ahmad A. (Eds). Springer. 410 p.
  - 35- Jiang Y., and Huang B. 2002. Protein alternation in tall fescue in response to drought stress and ABA. *Crop science*, 42: 202-207.
  - 36- Joseph B., Jini D., and Sujatha S. 2010. Insight into role of exogenous salicylic acid on plants growth under salt environment. *Asian Journal of Crop Science*, 2(4): 226 – 235.
  - 37- Kavikishore P. B., Sangam S., Amrotha R. N., Laxmi P., and Naidu S. 2005. Regulation of proline biosynthesis,

- degradation, uptake and transport in higher plants, crop science, 88: 424-438.
- 38- Khan M. B., Hussain N., and Iqbal M. 2001. Effect of water stress on growth and yield components of maize variety YHS 202. *Science*, 12: 15-18.
  - 39- Khodary A.S.E. 2004 . Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture & Biology*, 226:1560–8530.
  - 40- Lebon E., Pellegrino A., and Louarn G. 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera* L.) growing in drying soil. *Journal of Botany*, 98(1):175–185.
  - 41- Li N., B.L. Parsons B. L., Liu D. R., and Mattoo A. K. 1992. Accumulation of wound-inducible ACC synthase transcript in tomato fruit is inhibited by salicylic acid and polyamines. *Plant Molecular Biology*, 18: 477-487.
  - 42- Lurie S., Havdros A., Fallek E., and Shapira. 1996. Reversible inhibition of tomato fruit gene expression at light temperature. *Journal of Plant Physiology*, 110: 1207-1214.
  - 43- Maestri M., Damatta F. M., Regazzi A. J., and Barros R. S. 1995. Accumulation of proline and quaternary ammonium compounds in mature leaves of water stressed coffee plants (*Coffea Arabica* L. *Coffeacanephora* L.). *American Society for Horticultural Science*, 72(2): 229-223.
  - 44- Mandal S. 2010. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. *African Journal of Biotechnology*, 9(47): 8038-8047.
  - 45- Manivannan P., Jaleel CA., Kishorekumar A., Sankar B., Somasundaram R., Sridharan R., and Panneerselvam R. 2007. Changes in antioxidant metabolism of *Vigna unguiculata* L. Walp. By propiconazole under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57: 69-74.
  - 46- Mardani H., Bayat H., and Azizi M. 2011. The effect of foliar application of salicylic acid on morphological and physiological characteristics of cucumber seedlings (*Cucumis sativus* cv. *Super Dominus*) under drought stress. *Journal of Horticultural Science*, 25(3): 326-320. (in Persian with English abstract)
  - 47- McCree K.J. 1985. Whole plant carbon balance during osmotic adjustment to drought and salinity stress. *Aust. Journal of Plant Physiology*. 13, 33-43.
  - 48- Meir S., Philosophadas S., and Aharoni N. 1992. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid- peroxidation products detected during Parsley by a newly developed method. *American Society for Horticultural Science*, 117: 128- 132.
  - 49- Mohammadkhani N., and Heidari R. 2008. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *Journal of Biology*, 32: 23-30.
  - 50- Moradi Marjane A., and Goldani M. 2012. The effect of drought conflict and salicylic acid on some morphological features in (*calendula officinalis* L.) medical plant. *Journal of environmental stress on crop science*, 4(1):6. (in Persian)
  - 51- Nayyar H. and Walia D. P., 2003. Water stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. *Journal of Plant Biology*, 46: 275-279.
  - 52- Paquin R., and Lechasseur P. 1979. Observation sur un nouveau method de dosage de la proline libere dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854.
  - 53- Parida A., Das A. B., and Das P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45:28–36.
  - 54- Raskin I., 1992. Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43: 439-46.
  - 55- Rezaei T., Gholami M., Ershadi A., and Mossadeghi M. 2007. Effect of water stress on growth and physiological characteristics of five grape varieties. *Agricultural Research magazine: water, soil and plants in agriculture*, 4(7): 199-210. (in Persian with English abstract)
  - 56- Sairam R. K., Deshmukh P. S., and Saxena D. C. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. *Journal of Plant Biology*, 41 (3): 387-394.
  - 57- San-Miguel R., Gutierrez M., and Larque-saavedra A. 2003. Salicylic acid increases the biomass accumulation of *Pinus patula*. *Journal of Applied Forestry*, 27(1): 52-54.
  - 58- Senaratna T., Touchell D., Bunn E., and Dixon K. 1998. Method for inducing stress tolerance in plant material, Australia.
  - 59- Senaratna T., Merrit D., Dixon K., Bunn E., Touchell D., and Sivasithamparam K. 2003. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants. *Plant Growth Regulator*, 39: 77-81.
  - 60- Singh B., and Usha K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulator*, 39: 137-14.
  - 61- Smart D. R., Carlisle E., Goebel M., and Nunez A. 2005. Transverse hydraulic redistribution by a grapevine. *Plant, Cell & Environment*, 28: 157–166.
  - 62- Ton Y., and Kopyt M. 2004. Grapevine trunk and shoot diameter micro variations and trends as indicators of water potential. *Acta Horticulturae*, 652: 220-226.

- 63- Vafabakhsh J., NasiriMahallati M., and koocheki A. 2008. Effects of drought stress on radiation use efficiency and yield of winter Canola (*Brassica napus*L.). Iranian Journal of Field Crops Research, 6: 193-208.
- 64- Wang L. j., Fan L., Leoscher W., Duan W., Liv G. J., and Cheng J. S. 2010. Salicylic acid allivates decreases in photosynthesis under heat and accelerates recovery in grapevine leaves. Journal of Plant Biology, 10: 34-37.
- 65- Winkel T., and Rambal S. 1993. Influence of water stress on grapevine growing in field: from leaf to whole- plant response. Australian Journrnal of plant physiology, 20: 143-150.
- 66- Yadollahi A., Arzania K., Ebadib A., Wirthensohnc M., and Karimia S. 2011. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress. ScientiaHorticulturae, 129: 403-413.
- 67- Yildirim E., and Dursun A. 2003. Effect of foliar salicylic acid applications on plant growth and yield of tomato under greenhouse conditions. ActaHorticulturae, 807: 565- 571.
- 68- Zhu J. K. 2001. Cell signaling under salt, water and cold stresses. Current Opinion in Plant Biology, 4:401-406.





## The Effect of Salicylic Acid Application on Some Morphological and Physiological Characteristics of Grape Cultivars (*Vitisvinifera* L.) Under Drought Stress Conditions

N. Abbaspour<sup>1\*</sup> - L. Babaei<sup>2</sup> - A.R. Farrokhzad<sup>3</sup>

Received: 28-10-2015

Accepted: 01-06-2016

**Introduction:** Water stress is considered as a main environmental factor limiting crop growth and yield, including grape in Mediterranean areas. Selection for drought-tolerant varieties is possible through investigation of their performance under stress conditions. The estimation of physiological characteristics as reliable indices can be used as a tool to select tolerant plants. For this reason, varieties and genotypes of one plant species are usually investigated through physiological characteristics and its relation to drought tolerance. Investigation of the effects of water stress on some growth and physiological characteristics in grape plants has revealed that plant height, number of leaves and nodes, leaf area and the percentage of dry weight decreased under increasing drought stress. Salicylic Acid is a naturally occurring plant hormone which influences various morphological and physiological functions in plant. It can act as an important signaling molecule and has diverse effects on biotic and abiotic stresses tolerance capacity.

**Materials and Methods:** In this research, two-year-old grapes planted in plastic pots containing ingredients of humus, soil and sand (1:2:1) were used. The experiment was conducted using a factorial based on randomized complete block design with three factors including irrigation periods (every 5, 10 and 15 days), salicylic acid concentrations (0, 1 and 2 mM) and grape cultivars (Rasheh and Bidanese fid) with 3 replications in the greenhouse of faculty of agriculture in Urmia University. Plant height, stem diameter and leaf area and chlorophyll indices were measured by using ruler, digital caliper (Model 22855 NO: Z), leaf Area Meter (Model AM200) and SPAD-502 chlorophyll meter (Minolta Crop, Japan), respectively. In order to determine proline content, malondialdehyde (MDA), total protein and total soluble sugars, spectrophotometric methods [51, 25, 6 and 28] were utilized, respectively.

**Results and Discussion:** Based on comparing the averages related to the interaction of various levels of drought and salicylic acid, increasing watering intervals resulted in significant decrease in parameters of plant height, stem diameter, leaf area, leaf number and chlorophyll index, and increase in proline content, malondialdehyde, total protein and total soluble sugars. Furthermore, according to the obtained results, plant height, stem diameter, leaf number, chlorophyll index, accumulation of proline and total protein in grape cv. Rasheh were higher than Bidanese fidone. Drought effected the mitotic division, and elongation and expansion of cells, leading to reduced growth and crop yield. It was concluded that plant height, stem diameter, and leaf area decreased noticeably by increasing water stress. The reduction in plant height could be attributed to decline in the cell enlargement and higher rate of leaf senescence in the plant under water stress. The reduction in leaf number under severe water deficit was partially due to leaf senescence. Reduction in the number of leaves could be a response by plants to minimize the transpiration surface. Sorghum plants have also been reported to have a similar behavior through which they conserve water by reducing the number of leaves. When exposed to chronic water deficit, they showed an initial decrease in the daily increment of leaf area and eventually a decrease due to accelerated senescence. Dropping of the leaves during severe stress markedly reduces the evaporative surface and allows the plant to conserve water. It is well known that proline contents in leaves of many plants are enhanced by several stresses including drought stress. The efficiency of exogenous SA depends on multiple causes such as the species, developmental stage of the plant, manner of application and concentration of SA. Plant height, stem diameter, leaf number, leaf area, leaf total soluble sugar and chlorophyll index increased by applying 2 mM salicylic acid compared with 0 and 1 mM doses. The findings of this study showed that salicylic acid was able to enhance the tolerant capacity of the grape plant to the drought stress. According to the obtained results, Rasheh cultivar showed a greater resistance to drought stress. Salicylic acid prohibits auxin and cytokinin loss in plants and thus enhances cell division and plant growth. Salicylic acid maintains photosynthetic aspects like chlorophyll content at proper level and thus helps plants to grow and

1- Associate Professor, Biology Department, Urmia University

(\*- Corresponding Author Email: n.abbaspour@urmia.ac.ir)

2, 3 -MSc. Student and Assistant Professor, Horticultural Science Department, Urmia University

develop well. In this study, the drought stress increased the amount of MDA. MDA and other aldehydes in the dry conditions are the result of active oxygen species (ROS) such as super oxide radical, peroxide, hydrogen and radical hydroxide, which are produced under oxidative stress conditions. The species of active oxygen leads to lipids' peroxidation as a result of injury or damage to the cellular membrane, especially chloroplast membrane. Salicylic acid increases the activity of antioxidant enzymes such as CAT, POD and SOD which in turn protect plants against ROS generation and lipid peroxidation. Salicylic acid treatment also provides a considerable protection from the enzyme nitrate reductase, thereby maintaining the level of diverse proteins in leaves. Mohammadkhani and Heidari (48) found that the initial increase in total soluble proteins during drought stress was due to the expression of new stress proteins.

**Keywords:** Drought stress, Malondialdehyde, Proline, Salicylic acid, Total proteins, Soluble sugars



## مقایسه عملکرد و اجزای عملکرد دوازده ژنوتیپ ریحان بنفش در دو استان اصفهان و مازندران

ناهید آملی<sup>۱</sup> - امیر هوشنگ جلالی<sup>۲</sup> - پیمان جعفری<sup>۳\*</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۲

### چکیده

به منظور بررسی روند تغییرات عملکرد و اجزای عملکرد دوازده ژنوتیپ ریحان، پژوهشی در سال ۱۳۹۳ با استفاده از طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در دو استان اصفهان و مازندران انجام شد. ژنوتیپ‌های استفاده شده در این پژوهش از نظر عملکرد، ارتفاع بوته، تعداد برگ و تعداد ساقه فرعی با یکدیگر تفاوت معنی دار داشتند. عملکرد توده‌های قائم شهر، نکا، بهشهر، مبارکه و اردستان به ترتیب در دو استان اصفهان و مازندران برابر (۱۷/۱) و (۳۰/۸)، (۱۳/۵ و ۳۳/۸)، بهشهر (۱۲/۹ و ۲۹/۳)، مبارکه (۱۳/۶ و ۳۲) و اردستان (۱۵/۳ و ۳۲/۹) تن در هکتار بود که به طور معنی دار بیش از سایر ژنوتیپ‌ها بود. در منطقه اصفهان ارتفاع بوته دامنه ای از ۱۹/۶۷ (توده اردستان) تا ۲۸/۰۰ (بهشهر) سانتیمتر داشت، در حالی که این دامنه برای منطقه مازندران برابر ۲۹/۷ (فرح آباد) تا ۴۱/۷ (دستگرد) سانتیمتر بود. تعداد شاخه فرعی در تمام ژنوتیپ‌ها در منطقه اصفهان ۱/۵ تا ۲ برابر بیش از منطقه مازندران بود. ژنوتیپ بهشهر بیشترین تعداد برگ در این پژوهش را تولید نمود (۷۳/۳ عدد در بوته). در هر دو منطقه و برای تمامی ژنوتیپ‌ها عملکرد چین دوم حداکثر و عملکرد چین‌های اول و چهارم حداقل بود. با توجه به نتایج این پژوهش ویژگی‌های مورفولوژیک و عملکردی ژنوتیپ‌های ریحان به شدت تحت تاثیر شرایط محیطی قرار گرفته ولی ژنوتیپ‌هایی مثل قائم شهر، نکا، بهشهر، مبارکه و اردستان پایداری عملکرد مناسبی در شرایط محیطی مختلف نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع بوته، چین، شاخه فرعی

### مقدمه

است (۶). ریحان یکی از سبزی‌های برگی بشمار می‌رود که کاشت و تولید آن در شرایط مزرعه ای از زمان گذشته و در شرایط گلخانه ای نیز در سال‌های اخیر در سطوح گسترده انجام می‌گیرد. برگ‌های معطر این گیاه به صورت تازه یا خشک شده به عنوان چاشنی و طعم دهنده غذاها مورد استفاده قرار می‌گیرد. ساقه منشعب از قاعده به ارتفاع ۱۵ تا ۴۵ سانتیمتر، برگ‌ها متقابل و گل‌های آن به رنگ‌های سفید، گلی و گاهی بنفش بصورت مجتمع و در دسته‌های ۴ تا ۶ تایی در قسمت‌های انتهایی ساقه قرار گرفته اند (۲۲). ریحان به عنوان منبع آنتی اکسیدان طبیعی مورد توجه پژوهشگران است (۱).

بیش از ۶۰ رقم ریحان شناسایی شده اند که دارای برگ‌هایی به رنگ سبز و قرمز تا بنفش می‌باشند (۱۴). سهولت دگر گرده افشانی در جنس ریحان (علاوه بر حالت چند شکلی طبیعی) باعث ایجاد تنوع بالای مورفولوژیک و ایجاد زیر گونه‌های متعددی از این گیاه شده است (۱۱). ژنوتیپ‌های مختلف ریحان دارای ویژگی‌های متفاوتی بوده که این تفاوت‌ها با اقلیم منشا گرفته هر ژنوتیپ در ارتباط است. به عنوان مثال ریحان امریکایی به دلیل طعم شیرین، رنگ و یکنواختی اندازه برگ دارای کیفیت بالایی است. ریحان

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی دیپلوئید با ۴۸ عدد کروموزوم است. این گیاه از سبزی‌های برگی معطر یکساله و از خانواده نعناع بوده و موطن اصلی آن را هند و ایران ذکر نموده اند (۱۳). ریحان دارای عناصر آهن، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و ویتامین‌های A و B زیادی است و میزان کالری آن نیز بسیار پائین

۱- استادیار پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مازندران، ایران

۲- استادیار پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

۳- مربی پژوهش بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

\*- نویسنده مسئول: (Email: peimanjafari@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.50905

مصری که به نام ریحان آفریقایی شناخته شده است، طعم و مزه متفاوتی داشته و دارای ارزش پائین تری است (۱۰). در بررسی عملکرد ۱۵ ژنوتیپ ریحان در استان مازندران، ژنوتیپ جمع آوری شده از ساری (به رنگ برگ سبز) با عملکرد ۲۳/۶۳ تن در هکتار (محصول تر) بیشترین مقدار محصول را داشت (۲). معمولاً بین وزن برگ ریحان با وزن ساقه بیشترین همبستگی آماری مشاهده می‌شود (۱۵). در مقایسه ۳۸ توده ریحان با دو رقم اصلاح شده (اپال و کشکنی لولو)، توده‌های محلی از نظر بسیاری از صفات (مثل طول و عرض برگ و وزن تر و خشک) نسبت به ارقام اصلاح شده برتری نشان دادند و بنابراین نتیجه گیری شد در بین توده‌های محلی ریحان ایرانی، ژنوتیپ هایی وجود دارد که از نظر بسیاری از صفات زراعی و تغذیه ای قابل توجه هستند (۱۷). در مقایسه عملکرد ۳۸ ژنوتیپ ریحان در ایتالیا عملکرد ماده خشک دامنه ای از ۱۸۱۲ تا ۶۱۶۵ کیلوگرم در هکتار داشت که این دامنه بیشتر به توان ژنتیکی ژنوتیپ‌ها نسبت داده شد (۲۳). در پژوهشی که به منظور مقایسه عملکرد ماده خشک دو رقم اصلاح شده ریحان (Mesten، German) با یک توده محلی در چهار منطقه متفاوت انجام شد و نشان داده شد هر یک از این ژنوتیپ‌ها در یک منطقه خاص بیشترین عملکرد را داشت (۲۴).

متأسفانه علیرغم اهمیت جمعیت‌ها و توده‌های محلی ارقام زراعی و باغی از نظر ویژگی‌های زراعی و حضور ژن‌های سازش یافته با عوامل محیطی موجود، پژوهش در این زمینه در خور توجه نیست. توده‌های بومی ریحان دارای صفات ارزنده ای مثل مقاومت به خشکی، مقاوت به شوری، مقاوت به بیماری‌ها، مقاوت به سرما و گرما بوده و به همین دلیل برای حفظ این صفات مفید و به منظور دستیابی به جمعیت مطلوب ریحان بنفش، با عملکرد بالا در اصفهان و مازندران، پژوهش حاضر با استفاده از تعدادی از جمعیت‌های موجود در این دو استان انجام شد.

## مواد و روش‌ها

به منظور انتخاب ژنوتیپ برتر ریحان بنفش، از نظر عملکرد و سازگاری به شرایط اقلیمی مازندران و اصفهان تعدادی از جمعیت‌های موجود در این دو استان در دو ایستگاه تحقیقات کشاورزی قراخیل (مازندران) و کبوترآباد (اصفهان) کاشت و مورد بررسی قرار گرفتند. برخی از ویژگی‌های هواشناسی منطقه در جدول ۱ و ویژگی‌های بذور استفاده شده در جدول ۲ ذکر شده است. آزمایش در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار با بذور جمع آوری شده از مناطق ۲ استان (مجموعاً ۱۲ ژنوتیپ ریحان) به مدت ۱ سال انجام شد. تاریخ کاشت برای هر دو منطقه ۲۵ فروردین ماه سال ۱۳۹۳ در نظر گرفته شد. در آماده سازی زمین عبارت بود از شخم و دو دیسک عمود بر هم (جهت

خرد کردن کلوخه‌ها) و سپس تسطیح و کرت بندی زمین. در هر دو استان کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم بر اساس آزمون خاک مصرف شد. تمامی فسفر و پتاس مورد نیاز در زمان کاشت و نیتروژن به صورت تقسیط شده، یک دوم زمان کاشت، یک دوم به عنوان کود سرک یک ماه بعد داده شد. کاشت بصورت کشت بذر در زمین اصلی بود. در این آزمایش هر کرت آزمایشی شامل ۴ خط ۵ متری و به فاصله ردیف ۳۰ سانتیمتر و فاصله روی ردیف ۵ سانتی متر در نظر گرفته شد.

در این آزمایش در هر ۲ منطقه ۴ چین برداشت گردید. در طی مراحل داشت کنترل علف‌های هرز بصورت مکانیکی انجام شد. صفات مورد بررسی عبارت بودند از: تعداد چین برداشت (شروع برداشت از خرداد)، ارتفاع بوته قبل از شروع گلدهی، تعداد برگ هر بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، نسبت وزن برگ به ساقه، عملکرد سبزینه‌های شامل وزن تر اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به ترتیب با استفاده از برنامه نرم افزاری Mstat-C و روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

## نتایج و بحث

آزمون بارتلت بر اساس متجانس بودن واریانس‌های خط انجام و فرض صفر مبنی بر عدم وجود اختلاف معنی دار بین واریانس خط‌ها در آزمایش‌های جداگانه رد شد، لذا تجزیه واریانس مناطق مختلف به طور جداگانه انجام شد (جدول ۳).

نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف در منطقه اصفهان نشان داد بین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر عملکرد و ارتفاع ساقه در سطح احتمال ۵ درصد و تعداد برگ در بوته در سطح احتمال ۱ درصد از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات مختلف در جدول ۴ نشان داده شده است. توده ریحان قرمز قائم شهر با عملکرد ۱۷/۱ تن در هکتار بیشترین عملکرد را در میان توده‌های آزمایشی داشت اما عملکرد این توده با عملکرد توده‌های نکا، بهشهر، فرح آباد، بهنمیر، دستگرد، مبارکه، اردستان و درچه تفاوت معنی داری نداشت. توده‌های مازندران ۱ و ۲ و نجف آباد به ترتیب با عملکردهای ۱۱/۶۱، ۱۱/۰۰ و ۱۱/۱۰ تن در هکتار کمترین مقادیر عملکرد را در بین توده‌های آزمایشی داشتند. عملکرد دوازده توده ریحان آزمایشی در منطقه مازندران در اکثر موارد ۲ برابر و یا بیش از دو برابر منطقه اصفهان بود. توده ای مثل مازندران ۲ که در منطقه اصفهان کمترین مقادیر عملکرد را داشت در منطقه مازندران جزو توده‌هایی بود که دارای عملکرد بالایی بودند (۲۹/۶ تن در هکتار). توده‌های قائم شهر، نکا، بهشهر، مبارکه و اردستان جزو توده‌هایی بودند که در بین توده‌های آزمایشی در هر دو منطقه بطور معنی‌دار عملکرد بالاتری نسبت به سایر توده‌ها تولید نمودند. تفاوت توان ژنتیکی ژنوتیپ‌ها

نقش متوسطی برای شرایط محیطی در این رابطه قائل هستند (۳، ۹). در حالی که برخی دیگر معتقدند شرایط محیطی که گیاه در آن رشد می‌یابد تاثیر به سزایی بر عملکرد و ترکیبات گیاه دارد (۲۴). در منطقه اصفهان ارتفاع بوته دامنه ای از ۱۹/۶۷ (توده اردستان) تا ۲۸/۰۰ (بهشهر) سانتیمتر داشت، در حالی که این دامنه برای منطقه مازندران برابر ۲۹/۷ تا ۴۱/۷ سانتیمتر بود (جدول ۴). در پژوهش مقدم و همکاران (۲۰۱۳) در مورد توده‌های ریحان ایران (ریحان سبز و بنفش) دامنه تغییرات ارتفاع بوته از ۳۰/۴۱ تا ۴۹/۵ سانتیمتر متفاوت بود. در پژوهشی در ترکیه بالاترین ارتفاع ریحان بنفش در شرایط بدون محدودیت آب ۳۸/۶ سانتیمتر بود (۹).

می‌تواند دلیل این تفاوت در عملکرد باشد (۲۳). اختلاف عملکرد بین توده‌های بومی ریحان در ایران در سایر پژوهش‌ها نیز مورد توجه قرار گرفته (۲) و در اکثر این پژوهش‌ها بر توان و قابلیت توده‌های بومی تاکید شده است (۱۷). نکته قابل توجه دیگر این است که توده‌های ریحان در هر یک از دو منطقه پتانسیل عملکرد کاملا متفاوتی از خود نشان دادند. به طور مشابه مقایسه عملکرد ماده خشک دو رقم اصلاح شده ریحان (German, Mesten) با یک توده محلی در چهار منطقه نشان داد هر یک از این ژنوتیپ‌ها در یک منطقه خاص بیشترین عملکرد را داشتند (۲۴). برخی پژوهشگران عواملی مثل آبیاری، کودهی، دما و ژنوتیپ را عوامل اصلی موثر بر عملکرد می‌دانند و

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های هواشناسی دو منطقه اصفهان و مازندران

Table 1. Some meteorology characteristics of two areas

| ماه<br>Month                  | اصفهان<br>Esfahan | مازندران<br>Mazandaran |
|-------------------------------|-------------------|------------------------|
| متوسط دما                     |                   |                        |
| Temperature average (°C)      |                   |                        |
| اردیبهشت<br>April-May         | 24.4              | 20.9                   |
| خرداد<br>May-June             | 19.4              | 24.9                   |
| تیر<br>June-July              | 28.6              | 26.9                   |
| مرداد<br>July-August          | 28.7              | 28.1                   |
| میانگین رطوبت نسبی            |                   |                        |
| Relative humidity average (%) |                   |                        |
| اردیبهشت<br>April-May         | 22.5              | 76                     |
| خرداد<br>May-June             | 26.0              | 76                     |
| تیر<br>June-July              | 31.0              | 75                     |
| مرداد<br>July-August          | 43.5              | 67                     |
| مجموع بارندگی                 |                   |                        |
| Total Rainfall (mm)           |                   |                        |
| اردیبهشت<br>April-May         | 00.0              | 9.1                    |
| خرداد<br>May-June             | 0.00              | 30.9                   |
| تیر<br>June-July              | 0.60              | 24.8                   |
| مرداد<br>July-August          | 9.3               | 0.00                   |

جدول ۲- ویژگی‌های جمعیت/توده‌های استفاده شده در آزمایش

Table2 - Characteristics of used population/ landrace in the experiment

| شماره<br>Number | نام جمعیت/توده<br>Population/Landrace | منشا<br>Origin                    | توضیح<br>Explanation  |
|-----------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---|
| 1               | مازندران<br>Mazandaran                | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت پیشرفته ریحان بنفش مازندران طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Advanced population purple basil is purified in 3 years in Mazandaran                                |
| 2               | مازندران<br>Mazandaran                | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | توده اولیه جمعیت پیشرفته ریحان بنفش مازندران طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Initial landrace of advanced population purple basil is purified in 3 years in Mazandaran |
| 3               | قائم شهر<br>Ghaem shahr               | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت ریحان بنفش قائم شهر طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Ghaem shahr purple basil population has been purified over 3 years in Mazandaran                             |
| 4               | نکا<br>Neka                           | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت ریحان بنفش نکا طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Neka purple basil population has been purified over 3 years in Mazandaran   |
| 5               | بهشهر<br>Behshahr                     | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت ریحان بنفش بهشهر طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Behshahr purple basil population has been purified over 3 years in Mazandaran                                   |
| 6               | فرح آباد<br>Farahabad                 | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت ریحان بنفش فرح آباد<br>Farahabad Purple basil population  |
| 7               | بهنمیر<br>Behnamir                    | ایران-مازندران<br>Iran-Mazandaran | جمعیت ریحان بنفش بهنمیر طی ۳ سال در مازندران خالص شده است<br>Behnamir purple basil population has been purified over 3 years in Mazandaran                                  |
| 8               | دستگرد<br>Dastgerd                    | ایران-اصفهان<br>Iran-Isfahan      | توده دستگرد اصفهان<br>Isfahan Dastgerd landrace   |
| 9               | مبارکه<br>Mobarake                    | ایران-اصفهان<br>Iran-Isfahan      | جمعیت ریحان بنفش مبارکه<br>Mobarake Purple basil population   |
| 10              | نجف آباد<br>Najafabad                 | ایران-اصفهان<br>Iran-Isfahan      | جمعیت ریحان بنفش نجف آباد<br>Najafabad Purple basil population  |
| 11              | اردستان<br>Ardestan                   | ایران-اصفهان<br>Iran-Isfahan      | جمعیت ریحان بنفش اردستان<br>Ardestan Purple basil population  |
| 12              | درچه<br>Dorche                        | ایران-اصفهان<br>Iran-Isfahan      | جمعیت ریحان بنفش درچه<br>Dorche Purple basil population   |

بارش و رطوبتی که در برخی شرایط حتی بیش از نیاز گیاه بود (جدول ۱) شرایط را برای افزایش ارتفاع بوته فراهم کرده بود. تعداد برگ شاید مهم ترین شاخصه عملکرد از دید مصرف کننده باشد. معمولا ریحان‌های بنفش به دو گروه تقسیم بندی می‌شوند که در یک گروه تمام قسمت‌های هوایی به رنگ بنفش بوده (نوع Dark opal) و در گروه دیگر گل و ساقه بنفش و برگ‌ها سبز رنگ هستند (Darrah's purpurascens) (۴). در بین ۱۲ ژنوتیپ آزمایشی، تعداد برگ در اصفهان دامنه ای از ۵۳ (دستگرد) تا ۷۳/۷ (بهشهر) عدد و در مازندران دامنه ای از ۴۸/۳ (بهشهر) تا ۷۸/۳ (مازندران) عدد داشت (جدول ۴). ارقامی مثل اردستان و نظنر که بالاترین مقادیر عملکرد را در هر دو منطقه اصفهان و مازندران داشتند، از تعداد قابل توجهی برگ نیز برخوردار بودند. اکثر ژنوتیپ‌ها در منطقه مازندران از تعداد برگ بیشتری نسبت به منطقه اصفهان برخوردار بودند (بجز ژنوتیپ‌های قائم شهر، نکا، بهشهر، فرح آباد و نجف آباد). معمولا

ارتفاع بوته ریحان وابسته به گروه‌های مختلفی است که درون گونه ی *basilicum* وجود دارد. داره (۲۷) ۷ گروه مختلف ریحان را بر اساس ارتفاع و ویژگی‌های برگ تشخیص داد که از نظر ارتفاع و سایر خصوصیات تنوع قابل ملاحظه ای داشتند. در مقایسه ۱۲ ژنوتیپ مختلف ریحان رقم بنفش جزو سه رقمی بود که کمترین ارتفاع را داشتند و به نظر می‌رسد ارقام ریحان بنفش از ارتفاع کمتری نسبت به ارقام سبز رنگ برخوردار باشد (۸). ارتفاع در گیاه ریحان از جمله مهمترین صفاتی است که همبستگی مثبت و معنی داری با عملکرد تر دارد (۱۷) و علاوه بر عوامل ژنتیکی، ویژگی‌های محیطی، به ویژه مقدار رطوبت در دسترس گیاه نیز می‌تواند تاثیر قابل توجهی بر ارتفاع بوته داشته باشد (۱۶). در پژوهشی در ترکیه حتی تیمار ۱۲۵ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه نیز از نظر ارتفاع به طور معنی دار نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد رطوبت ظرفیت مزرعه برتری داشت (۹). در پژوهش حاضر نیز شرایط آب و هوایی مازندران نسبت به اصفهان با

منطقه مازندران با آسمان معمولاً ابری چنین حالتی وجود ندارد. به عبارت بهتر ساختار معماری گیاه در منطقه مازندران گیاهانی با طول ساقه اصلی بلند و تعداد شاخه فرعی کم و در منطقه اصفهان گیاهانی با ارتفاع کمتر و تعداد شاخه فرعی بیشتر خواهد بود. تاثیر مشابهی برای نفوذ نور و تاثیر آن بر پنجه زنی (در غلات) و تولید شاخه‌های فرعی در برخی از سبزی و صیفی جات گزارش شده است (۱۲). به هر حال برخی از پژوهشگران معتقدند خانواده نعنای هم با شرایط سایه و هم با شرایط آفتابی قابلیت تطابق داشته و این انعطاف پذیری فیزیولوژیک با تغییر در میزان نور محیط در گیاه ایجاد می‌شود (۲۰).

مناطق که نوسانات رطوبتی در خاک و هوا بیشتر باشد (مقایسه شرایط اصفهان و مازندران) تعداد و سطح برگ کمتری نیز دارند (۱۹). تعداد شاخه فرعی ژنوتیپ‌ها در منطقه اصفهان از ۱۲/۶ تا ۱۶/۳ عدد و در منطقه مازندران از ۶/۳ تا ۹/۳ عدد در تغییر بود (جدول ۴). کاهش تعداد شاخه فرعی در مازندران (۱/۵ تا ۲ برابر کمتر) به وضعیت تابش نور در این منطقه و تفاوت آن با تابش در منطقه اصفهان بر می‌گردد. در منطقه اصفهان آسمان معمولاً آفتابی و با تابش مستقیم نور خورشید زمینه را برای نفوذ نور به سایه انداز گیاه فراهم کرده و جوانه‌های ساقه به ویژه در قسمت‌های تحتانی گیاه فرصت تولید شاخه‌های جانبی را خواهند داشت در صورتی که در

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف برای دوازده ژنوتیپ ریحان بنفش در دو منطقه مازندران و اصفهان

Table3- Analysis of variance for different traits for 12 Purple Basil genotypes in Mazandaran and Esfahan Zones

| منابع تغییرات<br>Source of Variation | درجه آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>Mean Squares |                             |                        |                          |  |  |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------------|--------------------------|--|--|
|                                      |                  | عملکرد<br>Yield                | ارتفاع ساقه<br>Plant height | وزن برگ<br>Leaf weight | تعداد برگ<br>Leaf number | تعداد ساقه فرعی<br>Lateral stem number | نسبت وزن برگ به ساقه<br>Leaf/stem weight ratio |
| اصفهان<br>Esfahan                    |                  |                                |                             |                        |                          |  |  |
| تکرار<br>Replication                 | 2                | 21.96*                         | 66.33*                      | 93.35 <sup>n.s</sup>   | 847.58**                 | 1.08 <sup>n.s</sup>                    | 0.14*  |
| ژنوتیپ<br>Genotype                   | 11               | 8.61*                          | 20.67**                     | 28.52*                 | 89.16*                   | 4.00*                                  | 0.27 <sup>n.s</sup>                            |
| خطا<br>Error                         | 22               | 4.72                           | 4.91                        | 21.34                  | 85.75                    | 1.57                                   | 0.024  |
| ضریب تغییرات<br>CV (%)               | -                | 16.24                          | 9.50                        | 14.05                  | 15.04                    | 8.79                                   | 8.03   |
| مازندران<br>Mazandaran               |                  |                                |                             |                        |                          |  |  |
| تکرار<br>Replication                 | 2                | 102.7*                         | 105.02 <sup>n.s</sup>       | 101.0 <sup>n.s</sup>   | 578.85*                  | 2.77 <sup>n.s</sup>                    | 0.269 <sup>n.s</sup>                           |
| ژنوتیپ<br>Genotype                   | 11               | 29.38*                         | 47.54 <sup>n.s</sup>        | 23.28*                 | 253.36*                  | 3.93 <sup>n.s</sup>                    | 0.290 <sup>n.s</sup>                           |
| خطا<br>Error                         | 22               | 15.45                          | 46.60                       | 13.23                  | 206.43                   | 3.08                                   | 0.404  |
| ضریب تغییرات<br>CV (%)               | -                | 13.63                          | 17.46                       | 10.20                  | 16.89                    | 18.06                                  | 19.02  |

ns \* و \*\*: به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

\* and \*\*: Significant at %5 , %1 level of probability, respectively. ns = not significant

جدول ۴- مقایسه صفات عملکرد کل، ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد ساقه فرعی ژنوتیپ‌های مختلف ریحان بنفش در منطقه اصفهان  
Table 4. compares the yield, plant height, leaf number, number of lateral branches of different genotypes purple basil in Esfahan

| ژنوتیپ ها<br>Genotypes    | عملکرد<br>Yield (t ha <sup>-1</sup> ) |         | ارتفاع بوته<br>Plant height (cm) |         | تعداد برگ<br>Leaf number |         | تعداد ساقه فرعی<br>Lateral stem number |        |
|---------------------------|---------------------------------------|---------|----------------------------------|---------|--------------------------|---------|--|--------|
|                           | Es                                    | Ma      | Es                               | Ma      | Es                       | Ma      | Es                                     | Ma     |
| مازندران ۱<br>Mazandaran1 | 11.61 b                               | 25.0 cd | 21.0 bc                          | 36.3 bc | 63.7 bc                  | 78.3 a  | 14.0 b                                 | 8.0 ab |
| مازندران ۲<br>Mazandaran2 | 11.0 b                                | 29.6 ab | 27.3 a                           | 32.3 c  | 60.3 cd                  | 65.0 b  | 16.3 a                                 | 8.3 ab |
| قائم شهر<br>Ghaem shahr   | 17.1 a                                | 30.8 ab | 22.0 bc                          | 28.3 d  | 66.0 b                   | 60.3 c  | 14.0 b                                 | 6.3 c  |
| نکا<br>Neka               | 13.5 ab                               | 33.8 a  | 21.0 bc                          | 32.3 c  | 62.7 bc                  | 53.0 d  | 13.3 bc                                | 9.3 a  |
| بهشهر<br>Behshahr         | 12.9 ab                               | 29.3 ab | 28.0 a                           | 32.7 c  | 73.7 a                   | 48.3 d  | 15.6 a                                 | 8.0 ab |
| فرح آباد<br>Farahabad     | 13.8 ab                               | 27.7 c  | 21.8 bc                          | 29.7 d  | 62.7 bc                  | 61.0 bc | 12.6 c                                 | 7.6 bc |
| بهنمیر<br>Behnamir        | 13.6 ab                               | 23.9 d  | 24 abc                           | 31.7 cd | 61.7 c                   | 66.0 b  | 14.3 b                                 | 6.6 c  |
| دستگرد<br>Dastgerd        | 14.1 ab                               | 26.0c   | 26.0 ab                          | 41.7 a  | 53.0 f                   | 72.0 ab | 16.0 a                                 | 5.6 c  |
| مبارکه<br>Mobarake        | 13.6 ab                               | 32.0a   | 24 abc                           | 33.3 c  | 60.7 cd                  | 76.0 a  | 14.0 b                                 | 9.0 a  |
| نجف آباد<br>Najafabad     | 11.1 b                                | 28.7 bc | 22.3 bc                          | 35.7 bc | 63.3 bc                  | 62.3 bc | 14.0 b                                 | 6.6 c  |
| اردستان<br>Ardestan       | 15.3 ab                               | 32.9 ab | 19.7 c                           | 38.0 b  | 54.0 ef                  | 72.0 ab | 13.3 bc                                | 8.6 ab |
| درچه<br>Dorche            | 13.5 ab                               | 26.7 c  | 22.3 bc                          | 28.3 d  | 57.3 de                  | 72.3 ab | 13.3 bc                                | 7.0 bc |

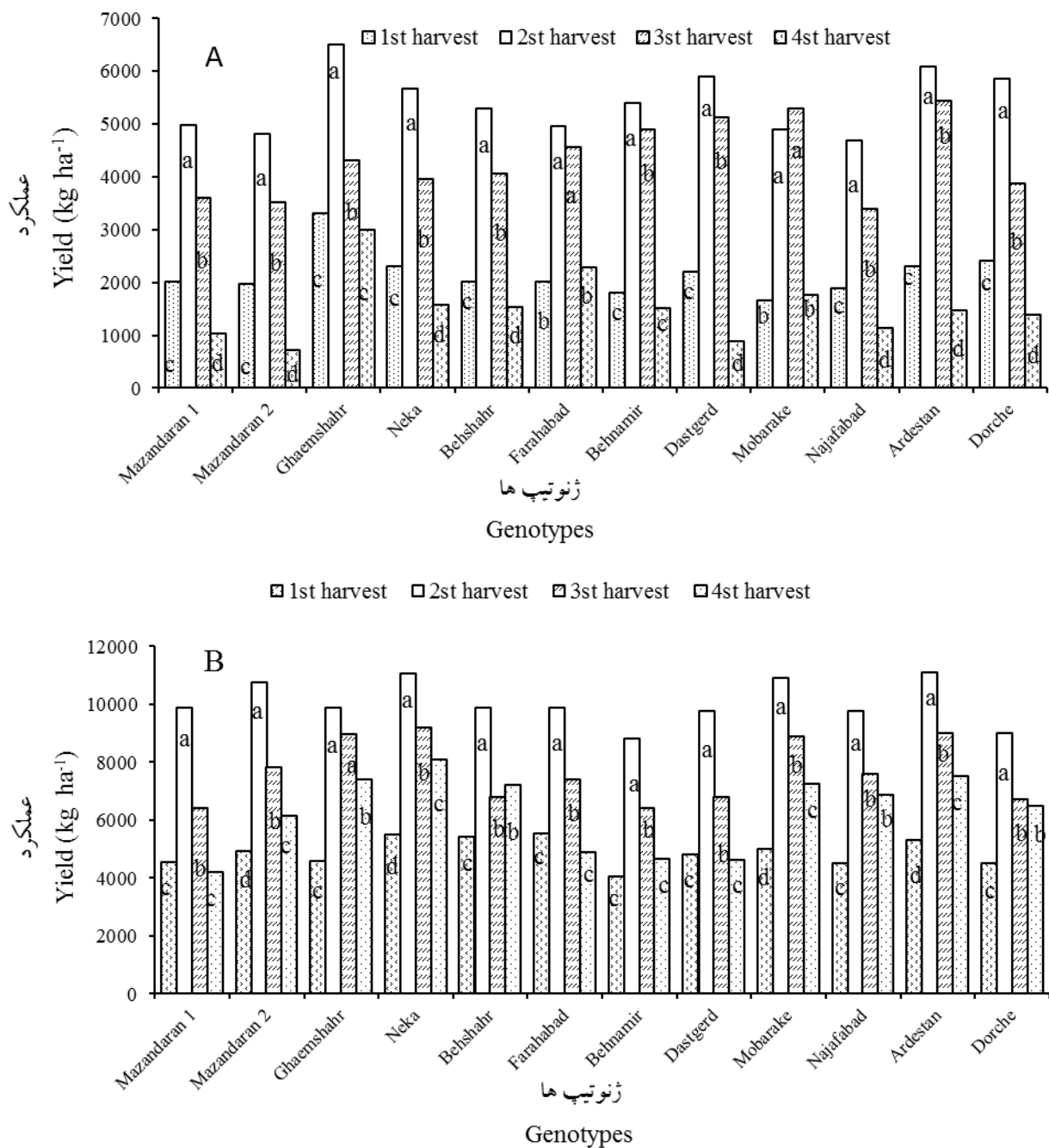
حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوتی ندارند (LSD 5%). Es و Ma به ترتیب مخفف اصفهان و مازندران هستند

- The numbers in each column with the same letters are not statistically different (LSD 5%). Es and Ma indicated Esfahan and Mazandaran, respectively,

دیده می‌شود (شکل ۱ B). بالاترین عملکرد چین دوم در بین ژنوتیپ‌های آزمایشی در منطقه اصفهان مربوط به ژنوتیپ قائم شهر (۶۵۰۷ کیلوگرم در هکتار) و در منطقه مازندران مربوط به ژنوتیپ اردستان (۱۱۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) بود. عملکرد کمتر در چین‌های اول می‌تواند به دلیل فرصت زمانی لازم برای استقرار بوته باشد، اما این که چرا چین‌های چهارم عملکرد کمتری داشتند می‌تواند به دو دلیل باشد یکی خاتمه رشد گیاه و اصطلاحاً مسن شدن آن و دیگری به دلیل دماهای بالا در این زمان (مراجعه به آمار دمای تیر و مرداد در جدول ۱). اگرچه ریحان گیاهی است که از نواحی گرم منشأ گرفته است (۵)، اما افزایش تنفس نگهداری گیاه که در دماهای بالا به وقوع می‌پیوندد مسئله ای است که باید به آن توجه نمود (۱۸). پژوهشگران دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد و طول روز ۱۲ ساعت را برای رشد ریحان مناسب می‌دانند (۲۱).

نکته جالب توجه دیگر این که داشتن تعداد شاخه فرعی زیادتر نتوانسته عامل تعیین کننده اصلی در تولید عملکرد ژنوتیپ‌ها باشد و سایه انداز گیاهی ایجاد شده در منطقه مازندران با اتکا به تعداد ساقه اصلی بیشتر (ونه شاخه فرعی) علیرغم تراکم مشابه، از این نظر برتری داشته است. در برخی دیگر از پژوهش‌ها نیز همبستگی معنی داری بین تعداد شاخه فرعی و عملکرد (لااقل برای توده‌های بومی) یافت نشده است (۱۷). عملکرد چین‌های مختلف ژنوتیپ‌های ریحان در دو منطقه اصفهان شکل ۱ A) و مازندران شکل ۱ B) بیانگر آن است که در هر دو منطقه بیشترین سهم عملکرد را چین‌های دوم و سوم به خود اختصاص داده اند (اگرچه عملکردهای چین‌ها در منطقه مازندران بیشتر بوده است). در برخی ژنوتیپ‌ها مثل فرح آباد و مبارکه (در منطقه اصفهان) تفاوت معنی داری بین عملکرد چین‌های دوم و سوم وجود نداشت و در بقیه ژنوتیپ‌ها چین دوم به طور معنی دار عملکرد بیشتری تولید نمود. روند نسبتاً مشابهی در منطقه مازندران





شکل ۱- عملکرد چین‌های مختلف ژنوتیپ‌های ریحان در دو منطقه اصفهان (A) و مازندران (B)

برای هر ژنوتیپ حروف مشابه از نظر آماری تفاوتی ندارند (LSD 5%).

For each Figure 1 - Yield of different harvesting for basil genotypes in two regions of Esfahan (A) and Mazandaran (B), genotype the same letters are not statistically different (LSD 5%)

### نتیجه گیری کلی

منحصر به فرد این توده‌ها قابل اهمیت است. در پژوهش حاضر از میان ۱۲ ژنوتیپ ریحان قرمز موجود در دو استان اصفهان و مازندران، جمعیت‌هایی مثل قائم شهر، نکا، بهشهر، مبارکه و اردستان در هریک از شرایط آب و هوایی مازندران (مرطوب و نیمه مرطوب) و

توجه به توده‌های محلی و جمعیت‌های بومی هر منطقه هم از نظر استفاده از پتانسیل تولیدی آنها و هم از نظر حفظ ویژگی‌های

تر (مثل مازندران) تعداد شاخه فرعی کمتر و ارتفاع بوته‌ها زیادتر شدند.

### سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مراکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان های اصفهان و مازندران به جهت تامین اعتبار این پژوهش سپاسگزاری نمایند.

اصفهان (خشک و نیمه خشک) نسبت به سایر جمعیت‌های آزمایشی عملکردهای بالاتری داشتند. شکل پذیری (Plasticity) و انعطاف پذیری ژنوتیپ‌های استفاده شده در این پژوهش، نکته قابل توجه دیگری است که در ارقام اصلاح شده کمتر به چشم می‌خورد. شکل ظاهری (ارتفاع، تعداد برگ و تعداد ساقه فرعی) و همچنین عملکرد ژنوتیپ‌ها به خوبی با شرایط آب و هوایی مختلف سازگار شده است. در مناطق خشک و نیمه خشک شبیه اصفهان بوته‌ها ارتفاع کمتر و تعداد شاخه جانبی بیشتری تولید کردند در حالی که در مناطق مرطوب

### منابع

- 1- Abas F., Israf N.H., Khozirah D.A., and Kalsom Y.U. 2006. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malary traditional vegetables. Food Chemistry 95:566-573.
- 2- Amoli N. 2011. The evaluate of yield and agronomic basil traits in Mazandaran. Proceedings of the Seventh Congress of Iranian Horticultural Science. Isfahan University of Technology. Page 265. (in Persian)
- 3- Arabaci O., and Bayram E. 2004. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristics of *Ocimum basilicum*. Journal of Agronomy 3:255-262.
- 4- Carovic-Stanko K., Salnovic A., Grdisa M., Liber Z., Kolak I., and Satovic Z. 2011. Efficiency of morphological trait descriptors in discrimination of *Ocimum basilicum*. Plant Biosystems 12:1-8.
- 5- Chang B.X., Alderson P.G., and Wright C.J. 2005. Effect of temperature integration on the growth and volatile oil content of basil. J. Hort. Sci. Biotech. 80: 593-598.
- 6- Chris A., Smith K and Sovo P. 2003. Controlling the growth and quality of hydroponically grown Basil (*Ocimum Basilicum* L.). Acta horticulture.7:16– 19.
- 7- Darrah H. 1980. The cultivated basil. Independences, MI: Thomas Buckeye Printing Co. 280 pp.
- 8- DeMasi L., Siviero P., Esposito C., Castaldo D., Siano, F., and Larrata B. 2006. Assessment of agronomic, chemical and genetic variability in common basil. Eur. Food. Res. Technol. 223:273-281.
- 9- Ekren, S., Sommez C., Ozcakal E., Kurttas Y.S., Bayram E., and Curgulu H. 2012. The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil. Agriculture Water Management 109:155-161.
- 10- Ghosta U., Hassani A., and Jalili R. 2007. The Study of antifungal activity of essential oils of Thyme, basil and rosemary. Proceedings of Iranian Horticultural Science Congress. Shiraz University. Page 124. (in Persian)
- 11- Grayer R.J., Kite J.C., Goldstone F.J., Bryan S.E., Paton A., and Putievsky E. 1996b. Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil. Phytochemistry 43:1033-1039.
- 12- Hemming S., Duesk T., Janse J., and van Noort F. 2008. The effect of diffuse light on crops. Acta Hort. 801:1293-1300.
- 13- Kashi A. 1996. Vegetable farming. Tehran University Press. 130 pp. (in Persian)
- 14- Lachowicz K.J., Jone G.P., Briggs D.R., Bienvenu F.E., and Hunter M.M. 1997. Characteristics of plants and plant extracts from five varieties of basil (*Ocimum basilicum* L.) grown in Australia. American Chemical Society. 45: 2660-2665.
- 15- Mirzaei M., and Omidbeigi R. 1386. The evaluate of cultivation, adaptability and active substances in new varieties of purple basil, in a Iran northern climate. Proceedings of Iranian Horticultural Science Congress. Shiraz University. Page 516. (in Persian)
- 16- Moeini Allishah H., Heidari R., Hassani A., Asadi A. 2006. Effect of water stress on some morphological and biochemical characteristics of purple basil. J. Biol. Sci. 6:763-767.
- 17- Moghadam M., Omidbeigi R., Salimi A., and Naghavi M.R. 2013. Morphological variation basil genus native populations in Iran. Iranian Journal of Horticultural Sciences 44:227-243. (in Persian)
- 18- Ryan, G.R. 1991. Effects of climate change on plant respiration. Ecological Applications 1:157-167.
- 19- Sirousmehr A., Arabi J., and Asgharipour M.R. 2014. Effect of drought stress levels and organic manures, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil. Advances in Environ. Biol. 8:880-885.
- 20- Valladares F., Wright S.J., Lasso E., Kitajima K., and Pearcy R.W. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 cogenes shrubs from a Panamanian rainforest. Ecology 74:1925-1936.
- 21- Wierdak R.N., Borowski B., Dzida K. 2011. Yield and chemical composition of basil herb depending on cultivar and foliar feeding with nitrogen. Acta Sci. Poi. Hortorum Cultus 10:207-219.
- 22- Zargari A. 1995. Medicinal plants. Fifth volume. Fourth Edition. Tehran University Press 974pp. (in Persian)

- 23- Zheljzkov V., Callaham A., and Cantrells L. 2008. Yield and oil composition of 38 Basil accessions grown in Mississippi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:241-245.
- 24- Zheljzkov V., Cantrells L., Evans W.B., Ebelhar M.W., and Coker C. 2008. Yield and composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum sanctum* L. grown at four locations. *HortScience* 43:737-741.



## Comparison of Yield of Twelve Basil Cultivars in Two Provinces: Isfahan and Mazandaran

N. Amoli<sup>1</sup>- A. Hooshang Jalali<sup>2</sup>- P. Jafari<sup>3\*</sup>

Received: 25-11-2015

Accepted: 01-06-2016

**Introduction:** Basil (*Ocimum basilicum* L.) is a diploid plant with 48 chromosomes. Basil is the aromatic annual herb of the Lamiaceae family of leafy vegetables and has mentioned and originated in India and Iran. Basil has iron, calcium, magnesium, potassium and vitamins A and B. More than 60 varieties of basil have been identified that have green leaves and red to purple. The performance of 15 varieties of basil in Mazandaran province were studied, genotypes collected from Sari (dark green) with the 23.63 t ha<sup>-1</sup> (fresh weight) had the highest yield. In comparison, 38 the mass basil, with two cultivars (Opal and Kashkany Lulu), local populations of many of the traits (e.g., length and width of leaves and fresh and dry weight) showed superiority than cultivars. In comparing the performance of 38 varieties of basil in Italy, dry matter yield per hectare ranged from 1812 to 6165 kg ha<sup>-1</sup> that this was more attributed to genetic aspects. Landraces of basil have valuable traits such as drought resistance, salt resistance, resistance to disease, resistance to cold and heat. In order to achieve optimal population purple basil with high-performance in Isfahan and Mazandaran, the present study was conducted using some of the population in these two provinces.

**Materials and Methods:** The number of populations of purple basil was studied to select superior genotypes according to the yield and adaptation to climatic conditions in two provinces at Agricultural Research Station Gharahil of Mazandaran and Kabootarabad of Isfahan. The experiment was conducted as a randomized complete block design with three replications with seeds collected from two areas of the province (a total of 12 varieties of basil) during one year. Land preparation was consisted of plow and disc perpendicular to each other (for crushing hunk) and then leveling and plot of land. In provinces, nitrogen, phosphorus and potassium fertilizer was used based on soil test. In this experiment, harvest time was 4<sup>st</sup>. for every two region. During the growing season weed control was carried out mechanically.

**Result and Discussions:** In both areas, the yield and plant height (at 5% statistical probability level) and the number of leaves per plant (at 1% statistical probability level) were statistically significant. In Isfahan area, Ghaemshahr red basil mass yield was 17.1 t ha<sup>-1</sup>, but the yield of this mass were not significantly different with Farah Abad, Bahnamiri, Dastgerd, Mobarake, Ardestan and Dorche. The yield of Mazandaran 1, Mazandaran 2 and Najaf Abad masses were 11.61, 11.02, and 11.10, respectively, that had the lowest performance among the masses. In Mazandaran region, in most cases, the yields of all 12 purple basil mass were two times or more than doubles in the Isfahan region. The yield of Mazandaran 2 mass was the lowest in Isfahan region, but had high performance (29.6 t ha<sup>-1</sup>) in Mazandaran region. In both regions, Ghaemshahr, Neka, Behshahr, Mobarakeh and Ardestan purple basil masses had the highest yield. In Isfahan, plant height ranged from 19.67 (Ardestan) to 28.00 cm, while this range in Mazandaran region was 29.7 to 41.7 cm. In a study in Turkey, a highest height for purple basil without water limitation was 38.6 cm. Basil plant height has a positive and significant correlation with performance and in addition to genetic factors, environmental characteristics, in particular the amount of moisture available to plants can also have a significant impact on plant height. Among all 12 genotypes tested, the number of leaves were 53 (Dastgerd) to 73.7 (Behshahr), and the number of leaves ranged from 48.3 (Behshahr) to 78.3 (Mazandaran 1) in Mazandaran. Usually the soil areas with high fluctuations in moisture and air (comparison Isfahan with Mazandaran), leaves had a smaller number and leaf area. The number of branches of genotypes was from 12.6 to 16.3 in Isfahan region and in the Mazandaran region was from 6.3 to 9.3. Reduce the number of branches in Mazandaran (1.5 to 2 times less) related to radiation exposure in the area and its

1 - Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mazandaran, Iran.

2- Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

3- Research trainer, Horticulture Crops Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

(\*-Corresponding Author Email: peimanjafari@yahoo.com)

difference with radiation in Isfahan. Usually the weather of Isfahan is sunny and direct sunlight whereas the weather of Mazandaran region is cloudy. In both regions, the greatest contribution performance harvest was in second and third harvest, respectively (although yields were higher in Mazandaran region). The lower yield at first harvest can be attributed with opportunity when it is necessary for plant establishment. The fourth harvest yield loss can be two reasons, one terminate of plant growth and aging, and other high temperature at this time. Although basil is a plant that originated from warm zones, but increased plant maintenance respiration can occur at high temperatures is an issue that should be considered.

**Keywords:** Branches, Harvest, Plant height

## تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌های برخی توده‌های بومی کدو و پایه‌های هیبرید وارداتی مناسب پیوند

علی فرهادی<sup>۱\*</sup> - حسین آروئی<sup>۲</sup> - حسین نعمتی<sup>۳</sup> - رضا صالحی<sup>۴</sup> - فرانچسکو جو فریدا<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۱

### چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد گیاه، بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. این تحقیق در دو آزمایش جداگانه کشت درون پتری دیش و کشت در بستر خاک درون کیسه نشا برای ارزیابی تحمل به شوری تعدادی از پایه‌های کدو در سال ۹۲ و ۹۳ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان انجام شد. جمعیت‌های بومی از کدوی حلوایی (اصفهان و کوشک)، کدوی مسمایی (الور، تیران، کوشک و اصغرآباد)، کدوی تنبل (کرمانشاه، شهرضا، محمدیه و الور)، کدوی قلیانی، لیف، کدوی ماری و هیبریدهای بین گونه‌ای (Ferro، ۱۱۳، ۹۱۰، ۹۰۹، ۹۱۳، ۴۲۶ و ۱۵۲) جمعاً ۲۰ تیمار در آزمایش اول استفاده شد. در آزمایش دوم جمعیت لیف و کدوی ماری و هیبریدهای ۴۲۶ و ۱۵۲ حذف گردید و توده بومی کدوی پوست کاغذی اضافه گردید. در واقع آزمایش دوم با ۱۷ تیمار انجام شد. تنش شوری با کاربرد کلرید سدیم در سطوح (صفر، دو، چهار، شش، هشت و ۱۰ دسی زیمنس بر متر) برای آزمایش اول و سطوح (صفر، دو و چهار دسی زیمنس بر متر) برای آزمایش دوم انجام شد. با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی، قطر ساقه، طول ساقه و ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، شاخص بنیه، حجم نسبی آب برگ و عدد اسپد (شاخص سبزی‌نگی) اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد (که به استثنای نسبت ریشه به ساقه در آزمایش اول) کلیه صفات رشد اندازه‌گیری شده در کدوها در هر دو آزمایش در پاسخ به افزایش شوری کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) نشان دادند. در تیمار رقم برای صفات اندازه‌گیری شده (به استثنای سرعت جوانه زنی و شاخص بنیه در آزمایش دوم) اختلاف معنی‌داری بین کدوها مشاهده شد. هیبرید فرو بیشترین درصد جوانه زنی را در بین پایه‌ها داشت. بیشترین قطر ساقه مربوط به توده‌های کدو تنبل بود. بیشترین طول ریشه در کدوی تنبل توده‌های شهرضا، کرمانشاه و الور و هیبریدهای بین گونه‌ای فرو، ۹۰۹ و ۹۱۰ بدست آمد. تیمار شوری ۴ دسی زیمنس بر متر از منبع NaCl، آستانه خسارت برای کدوهای حساس به تنش شوری بود. تنش شوری ۸ و ۱۰ دسی زیمنس بر متر به شدت سبب محدودیت رشد رویشی پایه‌های کدو گردید. در مجموع، از بین ارقام و پایه‌های مورد مطالعه، جمعیت‌های کدو حلوایی کوشک، کدو مسمایی کوشک و اصغرآباد، کدو قلیانی، کدو پوست کاغذی و هیبرید وارداتی ۱۱۳ حساس به شوری و کدوی تنبل کرمانشاه و شهرضا، کدو حلوایی اصفهان و هیبریدهای بین گونه‌ای فرو، ۹۰۹ و ۹۱۰ بر اساس صفات ارزیابی شده بعنوان پایه‌های برتر در تحمل به شوری معرفی شدند.

**واژه‌های کلیدی:** تحمل به شوری، جوانه‌زنی، رشد رویشی، شاخص بنیه

### مقدمه

یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که کشاورزی دنیا با آن مواجه است وجود آب و خاک‌های شور طبیعی و ادامه‌ی شور شدن خاک‌های زراعی موجود می‌باشد. عدم بارندگی کافی و توزیع نامناسب آن برای آیشویی نمک‌ها مشکلی است که در مناطق خشک و نیمه خشک جهان در روند شور شدن موثر است. بیش از شش درصد از کل اراضی و ۲۰ درصد از اراضی آبی جهان را خاک‌هایی تشکیل می‌دهد که در درجات مختلف تحت تأثیر نمک می‌باشند (۲۳ و ۲۸). اثر منفی شوری بر رشد گیاه می‌تواند در اثر تنش آبی، سمیت یون‌ها، عدم تعادل یونی، عدم جذب مواد غذایی به مقدار کافی و یا ترکیبی از این عوامل باشد (۱۶). پاسخ گیاهان نیز به تنش شوری بستگی به نوع نمک، غلظت نمک و ژنوتیپ گیاه دارد (۱۵). عکس العمل

- ۱- استادیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران
  - ۲ و ۳- دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
  - ۴- استادیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
  - ۵- استاد گروه محیط زیست و غذا، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کاتانیا، ایتالیا
- DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.52395

گزارش شده که سیستم ریشه‌ای وسیع، با تحمل به شوری گیاه همبستگی مثبت دارد (۲۲). تنش شوری سبب بازدارندگی فتوسنتز می‌شود که علت آن را به بسته بودن روزنه‌ها ناشی از غلظت کم CO<sub>2</sub> درون سلولی و فاکتورهای غیر روزنه‌ای دانسته‌اند (۲۴).

پیوند کردن در خانواده کدوئیان و بادمجانیان<sup>۵</sup> یک روش موثر و دوستدار طبیعت است که با استفاده از ژنوتیپ‌هایی با پتانسیل بالای عملکردی می‌تواند کاهش ناشی از کمبود محصول را در شرایط شور جبران نماید (۵). با توجه به ورود پایه‌های هیبرید تجاری مناسب پیوند از خارج کشور و اینکه تنوع زیادی از جمعیت کدوئیان نیز در ایران وجود دارد انتخاب ارقام پایه متحمل به شوری برای معرفی جهت پیوند بر روی آنها ضروری است. استمرار پدیده خشکسالی و گرم شدن جهانی به غلظت املاح شوری در خاک‌های زراعی می‌افزاید و کیفیت آب آبیاری تنزل یافته است لذا استفاده از ارقام متحمل به شوری یکی از راه‌های بسیار موثر اقتصادی زراعت در اراضی با شوری متوسط است.

برای تهیه ارقام متحمل به شوری نخستین گام، ارزیابی منابع ژنتیکی در دسترس (جمعیت‌های بومی کدوئیان) و هیبریدهای تجاری وارداتی می‌باشد. لذا هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی واکنش کدوها در مرحله جوانه‌زنی و مرحله رشد اولیه گیاهچه‌ای به دامنه وسیعی از سطوح شوری بود.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو آزمایش جداگانه، ابتدا در آزمایشگاه بخش ثبت و گواهی بذر و نهال و سپس در گلخانه ایستگاه تحقیقات کشاورزی دستگرد وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار طی سال ۹۲ و ۹۳ انجام گرفت. جمعیت‌های کدوهای بومی از مناطق مختلف استان اصفهان جمع‌آوری و بذور هیبریدهای بین گونه‌ای نیز از شرکت‌های وارد کننده بذر دریافت شد (جدول ۱). تیمار پایه شامل جمعیت‌های بومی از کدوی حلواپی (اصفهان و کوشک)، کدوی مسمایی (الور، تیران، کوشک و اصغرآباد)، کدوی تنبل (کرمانشاه، شهرضا، محمدیه و الور)، کدوی قلیانی، لیف، کدوی ماری و هیبریدهای بین گونه‌ای (فرو، ۱۱۳، ۹۱۰، ۹۰۹، ۹۱۳، ۴۲۶ و ۱۵۲) جمعاً ۲۰ تیمار در آزمایش اول استفاده شد. برای انجام آزمایش ابتدا پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۰ سانتی‌متر انتخاب شد. سپس تعداد ۲۵ عدد بذر از هر پایه به پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی انتقال یافت. برای ایجاد تنش شوری از محلول کلرید سدیم (NaCl) با غلظت‌های (صفر، دو، چهار، شش، هشت و ۱۰ دسی

فیزیولوژیکی گیاه به تنش شوری معمولاً با نکروزه شدن، کاهش سبزی‌نگی، رنگ پریدگی، پیری زودرس برگ و ایجاد اختلال در رشد گیاه قابل مشاهده است (۲۵ و ۲۷). افزایش سطح شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و ساقه، میزان کلسیم و پتاسیم و افزایش میزان سدیم در اندام هوایی و ریشه گیاه می‌گردد (۴). اکثر تنش‌های نمک در طبیعت، به نمک‌های سدیم مربوط می‌شود (۲۰) و عملکرد محصول تابع میزان غلظت یون‌های کلر و سدیم موجود در آب آبیاری و خاک زراعی می‌باشد.

جوانه‌زنی، یکی از بحرانی‌ترین مراحل رشد گیاه در شرایط تنش شوری می‌باشد (۶). گزارش شده پیش تیمار اولیه شوری و محلول‌های هورمونی در افزایش میزان جوانه‌زنی خربزه تاثیر بسزایی داشته است (۹). عدم جوانه‌زنی گیاهان در خاک‌های شور، اغلب در اثر تجمع زیاد نمک در ناحیه کاشت بذر، به دلیل حرکت رو به بالای محلول خاک و متعاقب آن، وقوع تجمع نمک در سطح خاک می‌باشد (۳). قدرت یک بذر در جوانه‌زنی و تولید گیاهچه در شرایط شور نشانگر این است که آن بذر دارای ظرفیت ژنتیکی لازم برای تحمل به شوری بوده ولی الزاماً بدین معنی نیست که گیاهچه‌ای که در شرایط شور شروع به رشد کرده است، رشد خود را در همان شرایط ادامه خواهد داد و گیاهچه حاصله در تمام مراحل زندگی از چنین تحملی برخوردار خواهد بود. برای مثال برنج و ذرت گیاهانی هستند که در جوانه‌زنی به شوری مقاوم هستند ولی در مراحل گیاهچه‌ای و گلدهی به شوری حساس می‌باشند و چغندر قند و آفتابگردان برعکس، در مراحل بعدی رشد خود متحمل اما در مرحله جوانه‌زنی به شوری حساس هستند و حتی میزان حساسیت به شوری در ارقام مختلف گیاهان نیز متفاوت می‌باشد (۱۹).

خانواده کدوئیان دامنه متفاوتی از حساسیت به شوری دارند. خیار<sup>۱</sup> یکی از سبزی‌های میوه‌ای خانواده کدوئیان<sup>۲</sup> است که هم در هوای آزاد و هم در محیط‌های کنترل شده پرورش یافته و به شوری حساس می‌باشد. بنابراین در صورت شور بودن خاک و آب آبیاری، ممکن است رشد و نمو این گیاه از مرحله جوانه‌زنی تا برداشت محصول به شدت تحت تأثیر قرار گیرد (۱۸). در حالی که برخی گونه‌های جنس کوکوربیتا<sup>۳</sup> و گروه ایندورس<sup>۴</sup> تحمل خوبی نسبت به شوری دارند (۲۱). کدو برگ انجیری به عنوان منبع تحمل به دمای پایین و شوری شناخته شده است (۱۲). به طور کلی، ارقام متحمل به خشکی و شوری، نسبت به ارقام حساس، از ریشه‌های حجیم‌تر، طولی‌تر و نسبت بزرگ‌تر ریشه به اندام هوایی برخوردار می‌باشند.

1 - *Cucumis sativus* L.

2 - Cucurbitaceae

3 - *Cucurbita* spp

4 - *Cucumis melo* var *inodorus*

(TWT) برگ‌ها درون پتری دیش در آب مقطر قرار داده شد و برای وزن خشک برگ‌ها (DWT) در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت درون آن قرار داده شد و بر اساس فرمول زیر مقدار حجم نسبی آب برگ تعیین گردید (۱۱).

$$RWC (\%) = [(FWT - DWT) / (TWT - DWT)] * 100 \quad (۴)$$

در پایان دوره تعداد برگ هر بوته شمارش گردید. طول بوته با متر اندازه‌گیری شد. میزان شاخص سبزیگی اندام هوایی در هفته آخر کشت با استفاده از کلروفیل‌متر دستی (مدل SPAD-502) اندازه‌گیری شد. طول بلندترین ریشه هر بوته با خط‌کش اندازه‌گیری شد. وزن تر اندام هوایی و ریشه با ترازوی با دقت ۰/۰۱ توزین گردید و درون آن به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس وزن خشک توزین شد. با اندازه‌گیری طول ساقه و ریشه میانگین طول گیاهچه در درصد جوانه‌زنی ضرب گردید و شاخص بنیه گزارش شد.

از نرم‌افزار CoStat برای تجزیه آماری داده‌ها استفاده و با مشاهده تفاوت معنی‌دار در آنالیز واریانس مقایسه میانگین با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. نمودار صفات نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم گردید.

## نتایج و بحث

### آزمایش اول

**جوانه‌زنی:** در کشت آزمایشگاهی درون پتری دیش بیشترین سرعت جوانه‌زنی با ۲/۵۵ گیاهچه در هر روز در تیمار شاهد بدون شوری و کمترین سرعت جوانه‌زنی (۲/۰۵ گیاهچه در هر روز) در تیمار شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر بود (شکل ۱). در کشت درون پتری دیش درصد جوانه‌زنی بذور در شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر بیشترین و شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر کمترین مقدار جوانه‌زنی را داشته‌اند. بیشترین درصد جوانه‌زنی بذور در پایه هیبرید فرو و کدوی تنبل الور و کمترین در کدوی ماری و لیف بدست آمد (جدول ۲).

پرایمینگ بذور برای تسهیل در جوانه‌زنی با مواد شیمیایی خاص روش پذیرفته‌شده‌ای است که برای بسیاری از بذور گیاهان توصیه می‌شود. به نظر می‌رسد نمک NaCl در مقدار کم (۴ دسی‌زیمنس بر متر) در بهبود جوانه‌زنی موثر بوده است. برای تسهیل در جوانه‌زنی، قرار دادن بذور در آب خالص یا هیدروپرایمینگ بذور باعث می‌شود فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی تحریک شده و موجب بهبود سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی رویش بوته‌ها، جوانه‌زنی تحت شرایط متنوع محیطی و بهبود بنیه و رشد نهال می‌شود (۷). اما ممکن است برای تمام بذور گیاهان، کاربردی نباشد زیرا برای هویج گزارش شده به علت نشت مواد متابولیکی از بذور و گسترش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و قارچ‌ها باعث کاهش جوانه‌زنی شده است (۲۶).

زیمنس بر متر) و به میزان ۱۰ میلی لیتر در هر پتری دیش استفاده شد. بطور روزانه سرکشی از پتری دیش‌ها صورت گرفت و در صورت نیاز، محلول اضافه می‌گردید. برای جلوگیری از فعالیت قارچ، در این آزمایش از محلول بنومیل و آب مقطر استفاده شد. پتری دیش‌ها برای خروج جوانه‌زنی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. جوانه‌زنی در این آزمایش به صورت خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه حداقل به میزان دو میلی‌متر تعریف گردید. شمارش بذورهای جوانه زده هر روز انجام شد. سرعت و درصد جوانه‌زنی از طریق فرمول زیر محاسبه گردید (۹).

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \text{Ni/N} * 100 \quad (۱)$$

$$\text{سرعت جوانه‌زنی} = \sum (\text{Ni/Ti}) \quad (۲)$$

Ni = تعداد بذورهای جوانه‌زده در روز I ام، Ti = شماره روز که از روز اول تا روز آخر جوانه‌زنی ادامه دارد و N = تعداد کل بذورهای جوانه‌زده.

بعد از رشد کافی گیاهچه‌ها، در روز دوازدهم طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و قطر ساقه‌چه با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه با ترازوی با دقت ۰/۰۱ توزین شد و با در دست داشتن درصد جوانه‌زنی و میانگین طول کلی گیاهچه‌ها (مجموع طول ریشه‌چه و ساقه‌چه)، شاخص بنیه بذر (VI) نیز طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۱).

$$VI = 100 / (\text{درصد جوانه‌زنی} \times \text{میانگین طول گیاهچه به میلی‌متر}) \quad (۳)$$

در آزمایش دوم سه سطح شوری صفر، دو و چهار دسی‌زیمنس بر متر با استفاده از نمک NaCl به عنوان عامل اول و تعداد ۱۷ پایه به عنوان عامل دوم در شرایط گلخانه بکار برده شد. در آزمایش دوم به دلیل عدم جوانه‌زنی و ناکافی بودن بذور، پایه‌های لیف، کدو ماری، ۱۵۲ و ۴۲۶ حذف و کدو پوست کاغذی<sup>۲</sup> جایگزین شد. با استفاده از کیسه‌های مشکی مخصوص تولید نشا با ابعاد ۲۰ قطر دهانه و ۲۵ سانتی‌متر ارتفاع و ترکیب خاک باغچه با بافت لومی رسی، کود دامی پوسیده و ماسه، کشت بذور انجام شد. هر کرت آزمایشی شامل ۳ کیسه نشا بود. پس از کاشت بذور و تا مرحله رشد عمودی و قبل از رشد خزندگی، روزانه بوته‌ها به مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر با تیمار شوری آبیاری شدند. بوته‌ها ۳۵ روز پس از کاشت جمع‌آوری و یادداشت برداری صورت گرفت. درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای نسبی آب برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته، عدد کلروفیل‌متر، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و شاخص بنیه اندازه‌گیری شد. تعیین محتوای نسبی آب برگ (RWC) با انتخاب جوان‌ترین برگ توسعه یافته، از هر یک از ارقام و در هر تکرار صورت گرفت. برگ‌ها برای وزن تر (FWT) توزین شدند، برای اندازه‌گیری وزن برگ آماس کرده

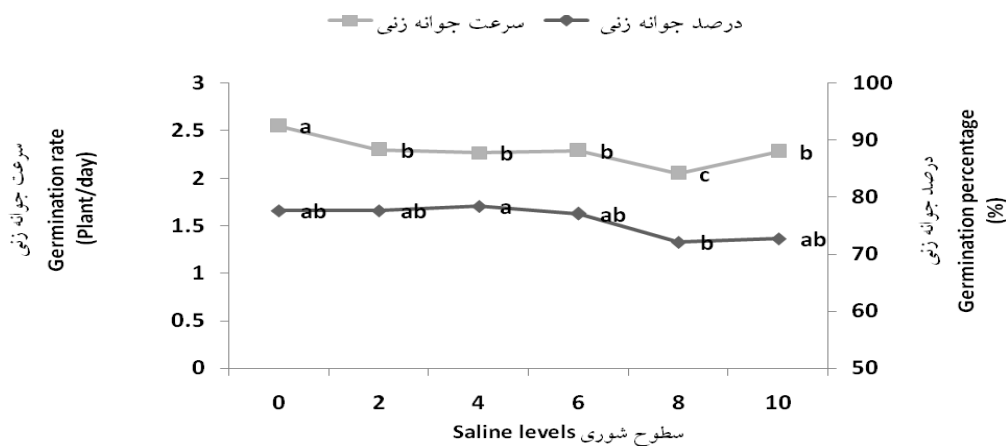
1 - Vigor Index

2 - Cucurbita pepo con. Pepo var. Styriaca



جدول ۱- مشخصات توده های بومی کدوها و هیبریدهای وارداتی مورد استفاده در این آزمایش  
Table1- Characteristics of local landrace and imported hybrids of used Cucurbits

| ردیف order | اسم علمی جمعیت‌های بومی و نام تجاری هیبریدهای وارداتی Scientific name | اسم مخفف برای این آزمایش Abbreviate name | ردیف order | اسم علمی جمعیت‌های کدو Scientific name | اسم مخفف برای این آزمایش Abbreviate name |
|------------|---|--|------------|--|--|
| 1          | <i>Lagenaria siceraria</i>  | قلیانی<br>Bottle gourd                   | 11         | <i>Cucurbita moschata</i>              | حلوایی اصفهان<br>Squash Isfahan          |
| 2          | <i>Luffa cylindrica</i>   | لیف<br>Luffa                             | 12         | <i>Cucurbita moschata</i>              | حلوایی کوشک<br>Squash Koshk              |
| 3          | <i>Trichosanthes cucumerina</i>                                       | کدو ماری<br>Snake gourd                  | 13         | <i>Cucurbita pepo</i>                  | مسمایی الور<br>Zucchini Alvar            |
| 4          | <sup>1</sup> Rz-Ferro   | Feroo                                    | 14         | <i>Cucurbita pepo</i>                  | مسمایی تیران<br>Zucchini Tiran           |
| 5          | Es113   | 113                                      | 15         | <i>Cucurbita pepo</i>                  | مسمایی کوشک<br>Zucchini Koshk            |
| 6          | <sup>2</sup> Ews910   | 910                                      | 16         | <i>Cucurbita pepo</i>                  | مسمایی اصفه‌آباد<br>Zucchini Asgharabad  |
| 7          | Ews909  | 909                                      | 17         | <i>Cucurbita maxima</i>                | تنبل کرمانشاه<br>Pumpkin Kermanshah      |
| 8          | Ews913  | 913                                      | 18         | <i>Cucurbita maxima</i>                | تنبل شهرضا<br>Pumpkin Shahreza           |
| 9          | Nema ferri 426  | 426                                      | 19         | <i>Cucurbita maxima</i>                | تنبل محمدیه<br>Pumpkin Mohamadiyeh       |
| 10         | Es152   | 152                                      | 20         | <i>Cucurbita maxima</i>                | تنبل الور<br>Pumpkin Alvar               |



شکل ۱- اثر مقادیر مختلف شوری بر درصد و سرعت جوانه زنی درون پتری دیش توده های بومی و هیبریدهای وارداتی کدو  
Figure 1- Effects of salinity amount(ds/m) on seed germination in petri dish of Cucurbit local landrace and imported hybrids

1 - Rijk Zwaan co.  
2 - East west seed co.

جدول ۲- مقایسه میانگین داده‌های اندازه‌گیری شده در پایه‌های مختلف کشت شده کدو درون پتری دیش  
Table 2- Comparison mean of calculated data in petri dish Cucurbit cultivated rootstocks

| پایه های کدو<br>Cucurbita<br>rootstock    | درصد جوانه-<br>زنی<br>Germination<br>(%) | سرعت جوانه-<br>زنی<br>Germination<br>rate<br>(Plant/day) | قطر<br>ساقه‌چه<br>Stem<br>diameter<br>(mm) | طول ساقه<br>Stem<br>length<br>(cm) | طول<br>ریشه<br>Root<br>length<br>(cm) | وزن تر<br>ساقه<br>Shoot<br>fresh<br>weight<br>(g) | وزن تر<br>ریشه<br>Root<br>fresh<br>weight<br>(g) | نسبت<br>ریشه به<br>ساقه<br>Root/<br>shoot<br>ratio | شاخص<br>بنیه<br>Vigor<br>index |
|---|--|--|--|------------------------------------|---------------------------------------|---|--|--|--------------------------------|
| حلوایی اصفهان<br>Squash<br>Isfahan        | 73.72e                                   | 2.38fg   | 3.22cd                                     | 7.4b                               | 9.44a                                 | 1.22de  | .32c   | .265a  | 122c                           |
| حلوایی کوشک<br>Squash Koshk               | 62.2f                                    | 1.81hi   | 3.04d                                      | 5.66cd                             | 5.18ef                                | 1.02fh  | .198ei   | .198b  | 65fg                           |
| مسمایی الور<br>Squash Alvar               | 95.56c                                   | 2.98bd   | 2.73e                                      | 8.29a                              | 7.54bc                                | 1.12eg  | .22dh  | .201b  | 150a                           |
| مسمایی تیران<br>ZucchiniTiran             | 52.78fg                                  | 1.65ij   | 3.4bc                                      | 9.04a                              | 8.64ab                                | 1.59b   | .403b  | .253a  | 96de                           |
| مسمایی کوشک<br>Zucchini<br>Koshk          | 93.3ac                                   | 3.2b   | 3.17dc                                     | 8.45a                              | 7.13c                                 | 1.33cd  | .253ce   | .197b  | 147ab                          |
| مسمایی اصغرآباد<br>Zucchini<br>Asgharabad | 85.94cd                                  | 2.54dg   | 2.68e                                      | 6.11c                              | 5.02ef                                | .96gi   | .185ei   | .193b  | 98de                           |
| تنبل کرمانشاه<br>Pumpkin<br>Kermanshah    | 81.28de                                  | 2.52dg   | 2.01fg                                     | 2.76h                              | 2.85g                                 | .97gi   | .193ei   | .199b  | 47gh                           |
| تنبل شهرضا<br>Pumpkin<br>Shahreza         | 98.11ac                                  | 5.19a  | 4.34a                                      | 4.98df                             | 9.41a                                 | 2.01a   | .54a   | .267a  | 142ab                          |
| تنبل محمدیه<br>Pumpkin<br>Mohamadiyeh     | 72.94e                                   | 2.18gh   | 4b   | 4.18fg                             | 3.88fg                                | 1.24ce  | .241cf   | .194b  | 62fg                           |
| تنبل الور<br>Pumpkin<br>Alvar             | 98.9ab                                   | 3.05bc   | 4.16a                                      | 5.61cd                             | 9.5a                                  | 1.87a   | .49a   | .257a  | 149a                           |
| قلیانی<br>Bottle gourd                    | 94.78ac                                  | 2.66cf   | 3.05d                                      | 4.57eg                             | 5.09ef                                | .87j  | .225dg   | .257a  | 91bc                           |
| لیف<br>Luffa                              | 16.67i                                   | .5k  | 1.73gh                                     | 3.78g                              | 4.17ef                                | .81hj   | .152gj   | .19b   | 11j                            |
| کدو ماری<br>Snake gourd                   | 36.5h                                    | .49k   | 1.47h                                      | 1.4i                               | 1.67h                                 | .6k   | .13ij  | .212b  | 10j                            |
| 910                                       | 88.9ad                                   | 2.69cf   | 3.25cd                                     | 5.25ce                             | 5.48de                                | 1.25ce  | .26ce  | .208b  | 96de                           |
| 909                                       | 95.56ac                                  | 2.86bf   | 2.59e                                      | 3.83g                              | 4.52ef                                | .94gj   | .197ei   | .208b  | 79ef                           |
| 913                                       | 87.5bd                                   | 2.42fg   | .75i                                       | 1.49i                              | 1.23h                                 | .57k  | .107j  | .195b  | 24ij                           |
| فرو<br>Ferro                              | 100a                                     | 2.94be   | 3.39bc                                     | 5.6cd                              | 7.41c                                 | 1.18df  | .32c   | .263a  | 130bc                          |
| 426                                       | 38.5h                                    | .71k   | 2.27f                                      | 4.27fg                             | 5.47de                                | .75jk   | .162fj   | .216b  | 37hi                           |
| 113                                       | 80de                                     | 2.46eg   | 3.44bc                                     | 6.21c                              | 6.6cd                                 | 1.44bc  | .29cd  | .204   | 102d                           |
| 152                                       | 95ac                                     | 2.44fg   | 3.2cd                                      | 2.84h                              | 2.93g                                 | .804ij  | .21ei  | .26a   | 56g                            |

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ندارند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ( $P < 0.05$ ) based on Duncan's multiple range test.

### خصوصیات رویشی گیاهچه‌ها در کشت درون پتری دیش

در مرحله اول آزمایش، نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد

که رقم و شوری و اثرات متقابل آنها تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.01$ ) بر قطر ساقه‌چه، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و

شده، کدوی تنبل شهرضا (دو گرم) و هیبرید ۹۱۳ (۰/۵۷ گرم) به ترتیب بیشترین و کمترین وزن تر ساقه را داشتند (جدول ۲). اعمال شوری در حد ده و هشت دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب سبب کاهش ۳۰ و ۲۶ درصد در وزن تر ساقه‌چه و ۱۹ و ۱۷ درصد در وزن ریشه-چه گردید (جدول ۳). بیشترین و کمترین طول ریشه‌چه به ترتیب در تیمار شوری دو و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بدست آمد (جدول ۳). در بین پایه‌های کشت شده، کدوی تنبل جمعیت شهرضا و الور و کدوی حلوائی اصفهان بیشترین و کدوی ماری و هیبرید ۹۱۳ کمترین طول ریشه را داشتند (جدول ۲). در شرایط تنش معمولاً "اندام هوایی آسیب بیشتری نسبت به ریشه می‌بیند. نتایج این تحقیق با گزارشات سایر محققین (۴) همخوانی دارد.

شاخص بنیه داشتند به طوری که با افزایش شوری آب آبیاری، مقادیر پارامترهای اندازه‌گیری شده کاهش یافتند (جدول ۳). بیشترین قطر ساقه‌چه در کشت درون پتری دیش در کدوی تنبل و شوری دو دسی‌زیمنس بر متر (۴/۵ میلی‌متر) و کمترین قطر ساقه‌چه در شوری هشت و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۵ میلی‌متر) حاصل شد. بیشترین ارتفاع گیاهچه در پایه‌های کدو مسمایی تیران (۹ میلی‌متر) و کمترین به کدو ماری و هیبرید ۹۱۳ (۱/۴ میلی‌متر) اختصاص داشت (جدول ۲). قطر ساقه عامل موثری برای ایجاد ارتباط آوندی بین پایه و پیوندک می‌باشد و انتخاب پایه‌هایی که از قطر ساقه بیشتری برخوردارند برای تسهیل در انجام پیوند و گیرایی آن موثر است (۲۱). درصفت طول و وزن تر ریشه کدوی تنبل شهرضا و الور نسبت به بقیه پایه‌ها از برتری محسوسی برخوردار بودند. در پایه‌های کشت

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در تیمار شوری (بر حسب دسی‌زیمنس بر متر) اعمال شده درون پتری دیش برای توده‌های بومی و هیبریدهای وارداتی کدو

Table 3- Comparison mean between collected traits in salinity treatment (ds/m) of Cucurbit local landrace and imported hybrids

| سطوح شوری<br>Level of salinity<br>(ds/m) | قطر ساقه‌چه<br>Stem diameter<br>(mm) | طول ساقه<br>Stem length<br>(cm) | طول ریشه<br>Root length<br>(cm) | وزن تر ساقه<br>Shoot fresh weight<br>(g) | وزن تر ریشه<br>Root fresh weight<br>(g) | نسبت ریشه به ساقه<br>Root/shoot ratio | شاخص بنیه<br>Vigor index |
|--|--------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|---|---------------------------------------|--------------------------|
| شاهد بدون شوری<br>Control                | 3.09a                                | 7.14a                           | 6.33b                           | 1.32a                                    | .27ab                                   | 0.205a                                | 111a                     |
| 2  | 2.95ab                               | 6.46b                           | 7.04a                           | 1.25ab                                   | .29a                                    | 0.223a                                | 113a                     |
| 4  | 2.93bc                               | 5.45c                           | 5.96b                           | 1.15b                                    | .26ac                                   | 0.225a                                | 95b                      |
| 6  | 2.85bc                               | 4.28d                           | 4.87cd                          | 1.05c                                    | .24bd                                   | 0.225a                                | 77c                      |
| 8  | 2.77cd                               | 3.63e                           | 4.29d                           | .97cd                                    | .22cd                                   | 0.224a                                | 64d                      |
| 10                                       | 2.64d                                | 3.58e                           | 4.23c                           | .92d                                     | .22cd                                   | 0.230a                                | 73c                      |

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ندارند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ( $P < 0.05$ ) based on Duncan's multiple range test.

جوانه‌زنی بذور، مرحله‌ای حساس و بحرانی در طول زندگی هر گیاه زراعی است (۳) که تحمل به شوری در این مرحله به ویژه در خاک‌های شور در تعیین عملکرد محصول تأثیر گذار خواهد بود. در آزمایش دوم، به نظر می‌رسد حساسیت پایه‌ها به شوری در بستر خاک بیشتر باشد و برخی از توده‌ها در شرایط شور قادر به جوانه‌زنی نبوده یا جوانه‌زنی و رشد غیر یکنواخت داشتند و یا اینکه پس از جوانه‌زنی، حساسیت به شوری در مرحله رویشی بوته اتفاق افتاده، لذا انتخاب پایه برای انجام پیوند با آب و خاک شور باید بر مبنای میزان سازگاری پایه و پیوندک و درصد ماندگاری بوته‌های پیوندی در شرایط شور ارزیابی شود.

در کشت درون پتری دیش در آزمایش اول، دو رقم لیف و کدوی ماری از حیث صفات اندازه‌گیری شده در بین سایر ارقام از حداقل ممکن برخوردار بودند برای آزمایش دوم (کشت خاکی) که شدت

در بین پایه‌ها، کدوی تنبل شهرضا، کدوی حلوائی اصفهان، هیبرید فرو، هیبرید ۱۵۲، کدوی تنبل الور، کدوی قلیانی و کدوی مسمایی تیران به ترتیب بیشترین نسبت ریشه به اندام هوایی را داشتند و در صفت شاخص بنیه، کدوی مسمایی الور، کدوی تنبل الور و کدوی تنبل شهرضا برتر از سایرین بودند.

#### آزمایش دوم، کشت در بستر خاک درون گلخانه

**جوانه‌زنی:** در آزمایش دوم (کشت خاکی) بیشترین سرعت و درصد جوانه‌زنی در شاهد بدون شوری بدست آمد. با افزایش شوری سیر نزولی جوانه‌زنی پدیدار گشت (شکل ۲). بیشترین درصد جوانه‌زنی در بین ارقام مربوط به پایه‌ی فرو (۸۲ درصد) و پایه‌ی ۹۰۹ (۷۸ درصد) و کمترین مربوط به کدوی قلیانی (۱۵ درصد) بود. سرعت جوانه‌زنی و شاخص بنیه در بین ارقام معنی‌دار نشد (جدول ۴).

تنش درون خاک بیشتر بود قادر به جوانه‌زنی و رشد نبودند و حذف شدند.



شکل ۲- اثر مقادیر مختلف شوری بر درصد و سرعت جوانه زنی بذور در بستر کشت خاکی  
Figure 2- Effect of salinity on seed germination in the soil

سانتی‌متر) بدست آمد و کوتاه‌ترین طول بوته مربوط به کدو مسمایی اصغرآباد و شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر (۵/۵ سانتی‌متر) بود. تیمار شاهد بدون شوری سبب افزایش بیشترین مقدار وزن تر ساقه گردید هر چقدر تیمار شوری (غلظت نمک) افزایش یافت میزان وزن تر ساقه کاهش بیشتری نشان داد (جدول ۵). کدوی مسمایی تیران با ۱۱ گرم و تنبل کرمانشاه با ۱۰ گرم بیشترین و کدو قلیانی با ۱/۵ گرم کمترین وزن تر بوته را داشته‌اند.

جمعیت کدو تنبل کرمانشاه بلندترین و کدو قلیانی کوتاه‌ترین طول ریشه را داشتند (جدول ۴). بیشترین وزن تر ریشه مربوط به کدو مسمایی تیران (۲/۱ گرم) و کمترین مربوط به کدو قلیانی (۰/۲۳ گرم) و کدو پوست کاغذی (۰/۴ گرم) بود (جدول ۴). میزان وزن خشک ریشه و ساقه در تیمار بدون شوری (شاهد) و شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر در یک سطح قرار گرفتند و تیمار شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر حداقل مقدار وزن خشک را داشت (جدول ۵). در پایه‌ها بیشترین وزن خشک ریشه و اندام هوایی از توده‌ها و جمعیت‌های بومی کدو تنبل و کدو مسمایی بدست آمد (جدول ۴). حداقل مقدار وزن خشک نیز در کدو قلیانی بود. جمعیت کدو تنبل، مسمایی و هیبریدهای ۹۱۰ و فرو بیشترین مقدار وزن تر و خشک ریشه و نسبت ریشه به اندام هوایی را داشتند. یکی از تأثیرات مضر شوری بر رشد گیاهان، اختلال در فرایمی اسمیلات‌های فتوسنتزی می‌باشد (۵). شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد (بدون شوری) در صفات درصد جوانه‌زنی، وزن تر ساقه و ریشه و شاخص بنیه گیاهچه به ترتیب سبب کاهش ۵۱ درصد، ۵۳ درصد، ۴۹ درصد و ۷۵ درصد در

گزارش شده جوانه‌زنی بحرانی‌ترین مرحله رشد گیاه در شرایط تنش شوری است (۶، ۱۷) و گیاهانی که این مرحله را پشت سر بگذارند ممکن است در مراحل بعدی رشد، تحمل بیشتری داشته باشند و به نظر می‌رسد کدوها نیز، در مرحله جوانه‌زنی حساسیت بیشتری به شوری دارند. عدم جوانه‌زنی برخی بذور ناشی از رکود فیزیکی بذر باشد مانند لیف یا هندوانه ابوجهل که نیاز به بررسی دقیق تر دارد. در مجموع پایه‌های هیبرید ۹۰۹، فرو، جمعیت‌های بومی کدو مسمایی الور، کدو تنبل الور و شهرضا، هیبرید ۹۱۰، ۹۱۳، کدو مسمایی کوشک و اصغرآباد و کدو قلیانی به ترتیب بیشترین درصد جوانه‌زنی را به خود اختصاص داده‌اند.

#### صفات رویشی گیاهان در آزمایش دوم (کشت در بستر خاک)

بیشترین تعداد برگ در هر بوته در کدو مسمایی تیران (۵)، کدو تنبل کرمانشاه (۴/۸) و کدو تنبل محمدیه (۴/۵) و کمترین تعداد برگ در کدو قلیانی (۱) شمارش شد (جدول ۴). در اثرات متقابل، بیشترین تعداد برگ (۷ عدد) از کدوی مسمایی اصغرآباد و شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر برداشت شد.

کمترین طول بوته در بین ارقام، مربوط به کدوی حلوایی کوشک (۸ سانتی‌متر) و قلیانی (۸/۳ سانتی‌متر) بود (جدول ۴). در حالی‌که هیبرید ۹۱۰، کدو مسمایی تیران، هیبرید ۹۰۹، کدو مسمایی الور، هیبرید فرو، کدو تنبل کرمانشاه، الور، شهرضا و محمدیه در گروه بالاتری نسبت به بقیه از نظر طول بوته قرار گرفتند. در اثرات متقابل بیشترین ارتفاع بوته، از هیبرید ۹۱۰ در شرایط بدون شوری (۳۱

صفات مورد اشاره شد.

کاهش در وزن خشک ریشه گیاه می‌تواند به دلیل اختلال در جذب مواد غذایی لازم برای رشد به دلیل کاهش توسعه سیستم ریشه‌ای صورت گیرد. تغذیه عناصر معدنی گیاه متأثر از شوری بوده و در اثر شوری جذب انتخابی یونها توسط ریشه مختل می‌شود، همین طور تغییراتی از نظر جذب عناصر معدنی توسط اندام هوایی و ریشه حاصل شده و میزان انتقال مواد درون گیاه کاهش می‌یابد. از طرف دیگر تجمع یون‌هایی که ممکن است در متابولیسم اختلال ایجاد کنند، افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق با یافته‌های سایر محققین همخوانی دارد که بیان داشتند شوری، رشد رویشی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و افزایش سطح شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و ساقه گیاه می‌گردد (۴).

#### نسبت ریشه به ساقه

شوری بر نسبت ریشه به ساقه اثر معنی‌داری داشت و با افزایش شوری، نسبت ریشه به ساقه کاهش یافت (جدول ۵). در بین پایه‌ها، هیبرید فرو، ۹۱۰، کدوی تبیل محمدیه، کدوی حلوائی اصفهان و هیبرید ۹۰۹ از نظر نسبت ریشه به ساقه در گروه برتری قرار گرفتند (جدول ۴). کاهش نسبت ریشه به ساقه حاکی از آن است که اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه کمتر از اندام هوایی بوده است (۳). همچنین گزارش نموده‌اند که نسبت بزرگتر ریشه به اندام هوایی توانایی گیاه را برای افزایش تحمل به شوری و خشکی بهبود می‌بخشد (۲، ۱۰). پایه‌های کدو مسمایی اصغر آباد، کدو قلیانی، کدو حلوائی کوشک و کدو پوست کاغذی از نسبت ریشه به ساقه کمتری برخوردار بودند و به نظر می‌رسد به شوری آب آبیاری حساسیت بیشتری داشته باشند. محققین دیگر با مطالعه نسبت وزن ریشه به شاخساره در جو نشان دادند که در وارته‌هایی که نسبت به گرما و خشکی مقاومند، میزان وزن خشک ریشه به وزن شاخساره بوته بیشتر از ارقام غیر مقاوم است (۲۲). اغلب متخصصین فیزیولوژی گیاهی، این نسبت را به عنوان یک معیار مناسب برای گزینش مقاومت به تنش‌های شوری و خشکی معرفی می‌کنند (۱۳ و ۱۶). بر اساس داده‌های حاصل از این تحقیق پایه‌های کدو تبیل، حلوائی اصفهان و هیبریدهای ۹۱۰، ۹۰۹ و فرو بیشترین مقدار اندام ریشه دارند و مطابق گزارش سایر محققین که بیان داشتند سیستم ریشه‌ای وسیع، با تحمل به شوری گیاه همبستگی مثبت دارد (۲۲) می‌توان پایه‌های مذکور را از بین پایه‌های مورد مطالعه بعنوان پایه‌های برتر متحمل به شوری معرفی نمود.

#### شاخص کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ

در آزمایش دوم (کشت خاکی) شاهد بدون شوری سبب افزایش

شاخص کلروفیل برگ (عدد اسپد) شد (جدول ۵). کمترین و بیشترین مقدار عدد اسپد در کدو مسمایی کوشک و کدو تبیل الور وجود داشت (جدول ۴). در اثرات متقابل بیشترین کلروفیل مربوط به هیبرید فرو و شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین مربوط به هیبرید ۹۰۹ و شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که محتوی آب نسبی برگ تحت تأثیر سطوح مختلف شوری قرار گرفته است، به نحوی که بیشترین میزان این صفت در سطح شاهد و کمترین آن در غلظت شدید شوری مشاهده شد، شاهد بدون شوری از محتوی آب نسبی بیشتری نسبت به بقیه تیمارها برخوردار بود (جدول ۵). در پارامتر محتوی نسبی آب برگ کدو تبیل کرمانشاه و کدو حلوائی کوشک به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را دارا بودند (جدول ۴).

در اثرات متقابل، کدو تبیل کرمانشاه با شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر بیشترین مقدار محتوی نسبی آب برگ را به خود اختصاص دادند. وجود همبستگی مثبت بین صفات مورد مطالعه و همبستگی منفی با شوری نشان می‌دهد توده‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه عکس العمل متفاوتی نسبت به شوری دارند (جدول همبستگی بین صفات در این مقاله ارائه نشد) همانگونه که محققین بیان داشته‌اند پاسخ گیاهان به تنش شوری بستگی به نوع نمک، غلظت نمک و ژنوتیپ گیاه دارد (۱۵). براساس نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد آستانه تحمل به شوری برای کدوها ۵-۴ دسی‌زیمنس بر متر باشد و افزایش شوری بیش از این دامنه در کاهش رشد بوته‌ها تأثیرگذار خواهد بود. بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد بیشتر کدوئیان در مرحله جوانه‌زنی به شدت به شوری خاک حساس هستند. با افزایش شدت تنش شوری درصد کاهش طول ساقه نسبت به ریشه بیشتر بود و به نظر می‌رسد طول ساقه به افزایش شوری حساسیت بسیار بالایی دارد (جدول ۳ و ۵). بررسی تنش شوری و ارزیابی آستانه شوری<sup>۱</sup> که باعث اختلال در جوانه‌زدن بذر می‌شود، به علت تغییرات دائمی رطوبت خاک که ناشی از تبخیر آب از سطح خاک، جذب آب به وسیله ریشه و حرکت موئینه‌ای آب در خاک می‌باشد، مشکل است (۸). پس این گونه بررسی‌ها باید در محیط‌های کنترل شده‌ای که پتانسیل آب اطراف ریشه به دقت مشخص باشد، انجام گیرد (۱۳). کشت درون پتری‌دیش بر این اساس انجام شد. بر مبنای صفت محتوی نسبی آب برگ، پایه‌های کدو حلوائی، کدو قلیانی، کدو مسمایی توده کوشک و هیبرید ۱۱۳ کمترین مقدار را در بین پایه‌ها داشت و به نظر می‌رسد حساسیت بالاتری نسبت به شوری داشته باشند. برای

جدول ۴- مقایسه میانگین داده‌های اندازه‌گیری شده در پایه‌های مختلف کدو کشت‌شده درون خاک در آزمایش دوم  
Table 4- Comparison mean of calculated data in plastic pot cultivated rootstocks of cucurbita

| پایه های کدو<br>Cucurbita rootstock    | درصد جوانه‌زنی<br>Germination (%) | سرعت جوانه-زنی<br>Germination rate (Plant/day) | تعداد برگ در هر بوته<br>No. of leaves | طول ساقه<br>Stem length (cm) | طول ریشه<br>Root length (cm) | وزن تر ساقه<br>Shoot fresh weight (g) | وزن تر ریشه<br>Root fresh weight (g) | وزن خشک بوته<br>stem dry matter (g) | وزن خشک ریشه<br>Root dry matter (g) | نسبت ریشه به ساقه<br>Root/shoot | شاخص سبزیگی<br>Spad index | محتوی نسبی آب برگ<br>RWc (%) | شاخص سبزیگی<br>Spad index | شاخص سبزیگی<br>Seedling vigor |
|--|-----------------------------------|--|---------------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------------|
| حلوای اصفهان<br>Halvahi Isfahan        | 50be                              | 0.14a  | 2.3gh                                 | 16.2b                        | 18.6cd                       | 3.16ef                                | 1.12bf                               | 0.36ce                              | 0.125ab                             | 0.237ab                         | 17.8e                     | 46.3e                        | 17.8e                     | 25.3a                         |
| حلوای کوشک<br>Halvahi Koshk            | 18.5fg                            | 0.05a  | 1.1j                                  | 8d                           | 8.9fg                        | 2.7ef                                 | .39fg                                | 0.11f                               | 0.027f                              | 0.056gh                         | 10.3gh                    | 21.3f                        | 10.3gh                    | 8.6a                          |
| مسمائی الور<br>Mosamaii Alvar          | 72.2ab                            | 0.15a  | 4.3bc                                 | 25a                          | 22.1bc                       | 4.9ce                                 | .54dg                                | 0.42ce                              | 0.049df                             | 0.108eh                         | 24cd                      | 71ab                         | 24cd                      | 23.3a                         |
| مسمائی تیران<br>Mosamaii Tiran         | 33.3eg                            | 0.09a  | 5a                                    | 26.7a                        | 22.3                         | 11.1a                                 | 2.1a                                 | 0.92a                               | 0.133ab                             | 0.18bd                          | 23.2cd                    | 68ac                         | 23.2cd                    | 13a                           |
| مسمائی کوشک<br>Mosamaii Koshk          | 37dg                              | 0.18a  | 1.6ij                                 | 13bd                         | 13.4df                       | 4df                                   | .63dg                                | 0.35df                              | 0.056cf                             | 0.083fh                         | 9.2h                      | 24.5f                        | 9.2h                      | 16a                           |
| مسمائی اصغرآباد<br>Mosamaii Asgharabad | 44.4bf                            | 0.08a  | 4.1c                                  | 13.5bc                       | 15.1de                       | 6.8cd                                 | .44eg                                | 0.403ce                             | 0.03f                               | 0.042h                          | 16.3e                     | 46.4e                        | 16.3e                     | 17.7a                         |
| Tanbal Kermanshah                      | 42.6cf                            | 0.19a  | 4.8ab                                 | 25a                          | 28.7a                        | 10.4ab                                | 1.94ab                               | 0.86ab                              | 0.164a                              | 0.185bc                         | 31.6ab                    | 72.1a                        | 31.6ab                    | 18.2a                         |
| تنبل شهرضا<br>Tanbal Shahreza          | 63ad                              | 0.1a   | 4.1c                                  | 23.5a                        | 26ab                         | 7.7bc                                 | 1.61ac                               | 0.8ab                               | 0.147ab                             | 0.174be                         | 33.1a                     | 66.1a                        | 33.1a                     | 19.4a                         |
| تنبل محمدیه<br>Tanbal Mohamadyeh       | 59.3ae                            | 0.18a  | 4.5ac                                 | 23a                          | 23.9ac                       | 5.7ce                                 | 1.26ae                               | 0.5cd                               | 0.094be                             | 0.202ab                         | 29.7ab                    | 63.2bd                       | 29.7ab                    | 25.4a                         |
| Tanbal Alvar                           | 66.7ac                            | 0.18a  | 3.9cd                                 | 24.6a                        | 26.7ab                       | 7.8bc                                 | 1.32ad                               | 0.63bc                              | 0.111ad                             | 0.191bc                         | 31.5ab                    | 66ad                         | 31.5ab                    | 29.2a                         |
| قلیانی<br>Ghalyani                     | 14.8g                             | 0.03a  | 1j                                    | 8.3cd                        | 7.7g                         | 1.5f                                  | .23g                                 | 0.103f                              | 0.017f                              | 0.05gh                          | 11.3fh                    | 22.2f                        | 11.3fh                    | 9.5a                          |
| پوست کاغذی<br>Postkaghazi              | 44.4bf                            | 0.09a  | 2.7fg                                 | 14.2b                        | 13.6df                       | 3.9df                                 | .4fg                                 | 0.383ce                             | 0.48df                              | 0.062fh                         | 15.2ef                    | 47.9e                        | 15.2ef                    | 10.4a                         |
| 910                                    | 61.1ae                            | 0.12a  | 3.4de                                 | 28.2a                        | 25.8ab                       | 6.7cd                                 | 1.78ac                               | 0.56cd                              | 0.117ac                             | 0.26a                           | 27.7bc                    | 62cd                         | 27.7bc                    | 26.6a                         |
| 909                                    | 77.8a                             | 0.13a  | 3ef                                   | 26.6a                        | 26.4ab                       | 5.7ce                                 | 1.23af                               | 0.43ce                              | 0.106ad                             | 0.21ab                          | 29.1ab                    | 64bd                         | 29.1ab                    | 25.8a                         |
| فرو<br>Ferro                           | 81.5a                             | 0.17a  | 3.1ef                                 | 24.4a                        | 27.1ab                       | 4.8ce                                 | 1.28ae                               | 0.49cd                              | 0.113ac                             | 0.27a                           | 30ab                      | 59.4d                        | 30ab                      | 29.4a                         |
| 913                                    | 48.1be                            | 0.11a  | 2.2gi                                 | 14.5b                        | 18.4cd                       | 3.6df                                 | .69dg                                | 0.32df                              | 0.06cf                              | 0.131cf                         | 22.6d                     | 42.8e                        | 22.6d                     | 16.6a                         |
| 113                                    | 44.5bf                            | 0.08a  | 1.7hj                                 | 11.6bd                       | 11.9eg                       | 3.6df                                 | .98cg                                | 0.21ef                              | 0.041ef                             | 0.115dg                         | 14.8eg                    | 28.2f                        | 14.8eg                    | 14.5a                         |

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ندارند.  
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05) based on Duncan's multiple range test.

جدول ۵- مقایسه میانگین داده‌های اندازه‌گیری شده در شوری‌های مختلف بر حسب اعمال شده درون خاک در مرحله دوم آزمایش در پایه‌های مختلف کدو  
Table 5- Comparison mean between collected traits in salinity treatment (ds/m) for different cucurbita rootstock

| سطوح شوری<br>Level of salinity<br>(ds/m) | درصد جوانه‌زنی<br>Germination (%) | سرعت جوانه-زنی<br>Germination rate<br>(Plant/day) |                |                | تعداد برگ<br>No. of leaves | طول ساقه<br>Stem length<br>(cm) | طول ریشه<br>Root length<br>(cm) | وزن تر ساقه<br>Shoot fresh weight<br>(g) | وزن تر ریشه<br>Root fresh weight<br>(g) | وزن خشک بوته<br>stem dry weight<br>(g) | وزن خشک ریشه<br>Root dry matter<br>(g) | نسبت ساقه ریشه به<br>Root/shoot ratio | شاخص سبزیبندی<br>Spad index | محتوی نسبی آب برگ<br>RWC (%) | شاخص بنیه دانه‌ها<br>Seedling vigor |
|--|-----------------------------------|---|----------------|----------------|----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|---|--|--|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
|  |                                   | سرعت جوانه-زنی                                    | درصد جوانه‌زنی | سرعت جوانه-زنی |                            |                                 |                                 |  |   |  |  |                                       |                             |                              |                                     |
| شاهد بدون شوری<br>Control                | 68a                               | 0.17a   | 3.7a           | 25.5a          | 25.5a                      | 6.8a                            | 1.24a                           | 0.58a                                    | 0.099a                                  | 0.183a                                 | 28.7a                                  | 68a                                   | 32a                         |                              |                                     |
| 2  | 50b                               | 0.12b   | 3.4b           | 19.8b          | 20b                        | 6.6a                            | 1.28a                           | 0.518a                                   | 0.105a                                  | 0.153b                                 | 22.7b                                  | 51b                                   | 17b                         |                              |                                     |
| 4  | 34c                               | 0.06c   | 2.2c           | 12.3c          | 14.2c                      | 3.2b                            | 0.63b                           | 0.283b                                   | 0.05b                                   | 0.113c                                 | 15.3c                                  | 35c                                   | 8c                          |                              |                                     |

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد ندارند.  
Numbers followed by the same letter are not significantly differentms (P<0.05) based on Duncan's multiple range test.

شوری آب آبیاری انتخاب شدند. حد آستانه خسارت شوری برای کدوها از ۴ دسی زیمنس شروع و شوری بیش از ۶ دسی زیمنس بر متر سبب محدودیت جدی برای رشد رویشی در کدوها می‌گردد. بررسی جامع منابع ژنتیکی کدوها برای ارزیابی به شرایط کم‌آبی و شوری که در گستره بسیار زیادی از ایران قرار دارند و مقایسه منابع دیگر شوری به غیر از کلرید سدیم همچون آب‌های شور چاه‌های کشاورزی که متاسفانه طی سالیان اخیر میزان شوری چاه‌ها افزایش و دبی آن کاهش یافته است و انتخاب متحمل‌ترین توده‌ها یا ارقام و پیوند گیاهان مطلوب بر این پایه‌ها و ارزیابی مجدد تحمل به شوری در گیاهان پیوند شده برای پژوهش‌های آتی پیشنهاد می‌شود.

اینکه اثرات تنش‌های محیطی کاهش یابند بسیار حیاتی و مهم است که گیاهان متحمل به تنش از طریق سلکسیون و اصلاح واریته‌هایی که پتانسیل ذاتی بالایی برای تولید محصول در شرایط شور و خشکی دارند گسترش یابند (۱۴). خیار، هندوانه و ملون‌ها معمولاً پیوند می‌شوند که هم پایه‌های مشترک و هم اینکه هر کدام پایه اختصاصی دارند (۱۴). انتخاب پایه مطلوب در بهبود صفات کمی و کیفی پیوندک موثر خواهد بود.

### نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق جمعیت‌های کدو تنبل شهرضا و کرمانشاه، حلوایی اصفهان، مسمایی تیران و هیبریدهای ۹۰۹، ۹۱۰ و فرو به عنوان برترین و متحمل‌ترین پایه‌ها در برابر

### منابع

- 1- Abdul-Baki A.A., and Anderon J.D. 1973. Vigor determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science*, 13: 630-633.
- 2- Akbari Ghogdi E., Izadi-Darbandi A., Borzouei A., and Majdabadi A. 2011. Evaluation of morphological changes in some wheat genotypes under salt stress. *Journal. Science. & Technology. Greenhouse Culture*, 1(4):71-82. (in Persian with English abstract)
- 3- Amjad M., Ziaf K., Iqbal Q., Ahmad I., and Atif Riaz M. 2007. Effect of seed priming on seed vigor and salt tolerance in hot pepper. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 44 (3): 408-416.
- 4- Archangi A.M., Khodambashi V., and Mohamadkhani A. 2012. The effect of salt stress on morphological characteristics and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Ca<sup>+</sup> ion contents in medicinal plant fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) under hydroponic culture. *Journal. Science. & Technology. Greenhouse Culture*, 3(10):33-40. (in Persian with English abstract)
- 5- Colla G., Fanasca S., Cardarelli M., Roupheal Y., Saccardo F., Graifenberg A., and Curadi M. 2005. Evaluation of salt tolerance in rootstocks of cucurbitaceae. *Acta Horticulture*, 697:469-471.
- 6- Colla G., Roupheal Y., Cardarelli M., Salerno A., and Rea E. 2010. The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon, *Environmental and Experimental Botany*, 68:283-291.
- 7- Demir I., and Vande venter H. A. 1999. The effect of priming treatments on the performance of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) seeds under temperature and osmotic stress. *Seed Science and Technology*, 27: 871- 875.
- 8- Du C.X., Fan H.F., Guo S.R., Tezuka T., and Li J. 2010. Proteomic analysis of cucumber seedling roots subjected to salt stress, *Phytochemistry*, 71:1450-1459.
- 9- Edelstein M., and Kigel J. 1990. Seed germination of melon (*Cucumis melo*) at sub- and supra- optimal temperatures. *Scientia Horticulturae*, 45:55-63.
- 10- Ganjali A., Persa H., and Hojat S. 2007. Genetic variation of seedling root and shoot traits in pea (*Cicer arietinum* L.) In the hydroponics and greenhouse. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 5(1):143-155. (in Persian with English abstract)
- 11- Huang Y., Bie Z.L., Liu Z.X., Zhen A., and Jiao X.R. 2011. Improving cucumber photosynthetic capacity under NaCl stress by grafting onto two salt tolerant pumpkin rootstocks. *Biologia plantarum*, 55(2): 285-290.
- 12- Huang Y., Kong Q.S., Chen F., and Bie Z.L. 2015. The History, Current Status and Future Prospects of Vegetable Grafting in China. *Acta Horticulture*, 1086:31-39.
- 13- Kafi M., and Mahdavi Damghani M. 2000. Mechanisms of plant resistance to environmental stress. Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian)
- 14- King S. R., Davis A. R., Zhang X., and Crosby K. (2010). Genetics, breeding and selection of rootstocks for Solanaceae and Cucurbitaceae. *Scientia horticulturae*, 127(2):106-111.
- 15- Kumar V., Shriram V., Nikam T.D., Jawalib N., and Shitole M.G. 2008. Sodium chloride-induced changes in mineral nutrients and proline accumulation in Indica rice cultivars differing in salt tolerance. *Journal Plant Nutrition*, 31: 1999-2017.



- 16- Kurth E., Cramer G.R., Lauchli A., and Epstein E. 1986. Effects of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on cell enlargement and cell production in cotton roots. *Plant Physiology*, 82: 1102-1106.
- 17- Lal Khajanchi S.G., Setih M., Sharma P.C., Swarup A., and Gupta S.K. 2007. Effect of NaCl concentration on growth, root morphology and photosynthetic pigment in wheat and barley under solution culture. *Journal Agrochimistry*, 51: 194-206.
- 18- Leung J., Bouvier-Durand M., Morris P.C., Guerrier D., Chedfor F., and Giraudat J. 1994. Arabidopsis ABA-response gene ABI1: features of a calcium-modulated protein phosphatase. *Plant Science*, 264: 1448-1452.
- 19- MirMohamadi Meybodi S A., and Gharayazi B. 2002. Physiological aspects of salinity and plant breeding. Isfahan University of Technology. (in Persian)
- 20- Roupheal Y., Cardarelli M., Rea E., and Colla G. 2012. Improving melon and cucumber photosynthetic activity, mineral composition, and growth performance under salinity stress by grafting onto Cucurbita hybrid rootstocks. *Photosynthetica*, 50(2):180-188.
- 21- Savvas D., Ntatsi G., and Barouchas P., 2013. Impact of grafting and rootstock genotype on cation uptake by cucumber (*Cucumis sativus* L.) exposed to Cd or Ni stress. *Scientia Horticulturae*, 149: 86-96.
- 22- Shelden M.C., Roessner U., Sharp R.E., Tester M., and Bacic A. 2013. Genetic variation in the root growth response of barley genotypes to salinity stress. *Functional. Plant Biology*, 40(5): 516-530.
- 23- Siyal A.A., Skaggs T.H., and van Genuchten M.T. 2010. Reclamation of saline soils by partial ponding: Simulations for different soils. *Vadose Zone Journal*, 9: 486-495.
- 24- Tarchoune I., Degl'Innocenti E., Kaddour R., Guidi L., Lachaâl M., Navari-Izzo F., and Ouerghi Z. 2012. Effects of NaCl or Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> salinity on plant growth, ion content and photosynthetic activity in *Ocimum basilicum* L. *Acta Physiologica. Plantarum*, 34:607-615.
- 25- Trivellini A., Gordillo B., Rodríguez-Pulido F.J., Borghesi E., Ferrante A., Vernieri P., Quijada-Morín N., González-Miret M.L., and Heredia F.J. 2014. Effect of salt stress in the regulation of anthocyanins and color of Hibiscus flowers by digital image analysis. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 62:6966-6974.
- 26- Tylkowska K., and Van den Bulk R. W. 2001. Effects of osmo and hydro priming on fungal infestation levels and germination of carrot (*Daucus carota* L.) seeds contaminated with *Alternaria* spp. *Seed Science and Technology*, 29: 365-375.
- 27- Uygur V., and Yetisir H., 2009. Effects of rootstocks on some growth parameters, phosphorous and nitrogen uptake by watermelon under salt stress, *Journal of plant nutrition*, 32:629-643.
- 28- Yang Y., Wang L., Tian J., Li J., Sun J., He L., Guo S., and Tezuka T. 2012. Proteomic study participating the enhancement of growth and salt tolerance of bottle gourd rootstock-grafted watermelon seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 58:54-65.



## Effects of Salinity Stress on Morphological and Physiological Characteristics of some Local Landrace and Inter specific Hybrids of Cucurbits Seedlings as Rootstocks

A.Farhadi<sup>1\*</sup>- H. Aroiee<sup>2</sup>- H.Nemati<sup>3</sup>- R. Salehi<sup>4</sup> -F.Giuffrida<sup>5</sup>

Received: 05-01-2016

Accepted: 10-05-2016

**Introduction:** Salinity stress is regarded as one of the most important abiotic factors in plant limiting growth, particularly in arid and semi-arid regions. The reduction of plant growth by salinity stress has been well documented. When water supply is limited, plant structure is modified by increasing the root: shoot ratio. To reduce of losses in vegetative growth and production of plant and to improve water use efficiency under saline conditions in high-yielding genotypes grafting them onto rootstocks could bereduced the effect of saline stress on plant shoot. Grafting is a routine technique in continuous cropping systems. Most of the species of cucurbits are distributed in the dry regions. The objective of this studywas investigated the effectiveness of salinity stress on accessions of cucurbita and hybrid inter specific which enter from another country to Iran.

**Materials and Methods:** This research was conducted in laboratory and greenhouse at the Research Center of Agricultural and Natural Resources of Isfahan during 2013-2014 growing season. A factorial experiment based on completely randomized design with three replications was conducted for rootstock and irrigation water salinity. In the first experiment 25 seeds of rootstocks were sown in petri dishes with 10 cm diameter and irrigated by 10 ml of saline water. Rootstocks included 20 different local landraces and interspecific hybrids (*C.moschata* cv. *Isfahan* and *Koshk*, *C.pepo* cv. *Alvar*, *Tiran*, *Koshk* and *Asgharabad*, *C. maxima* cv. *Kermanshah*, *Shahreza*, *Mohamadiyeh* and *Alvar*, *Lagenaria Siceraria*, *Luffa cylindrica*, *Trichosanthes cucumerina*, RZ-Ferro, Es113, Ews910, Ews909, Ews913, 426 and Es152). Salinity stress was 6 levels (0, 2, 4, 6, 8 and 10 ds/m of NaCl). Germination, diameter of stem, height of root and stem, shoot and root fresh mass, vigor index and root: shoot ratio were evaluated. In the second experiment seeds were sown in plastic pot by soil media. Seedlings were irrigated daily with 200 ml of saline water (0, 2 and 4 ds/m) for 35 days. Excess solution was allowed to drain from the plants through drainage holes in the base of the pots. Hybrids of 152,426 and *Trichosanthes cucumerina*, *Luffa cylindrical* and *Cucurbita pepo* con. *Pepo* var. *Styriaca* was added. In the second phase measured shoot and root dry mass, SPAD index, relatively water content and seedling vigor index.

**Results and Discussion:** the results showed that all parameters were significantly influenced by salinity except root: shoot ratio in Petri dish. Salinity stress reduced chlorophyll index (SPAD), relative water content in cucurbita leaves than control (without saline) and also seeds germination, seedlings fresh mass and seedlings vigour by 51%, 53%, and 75 % respectively. .The shoot dry biomass of local landrace and inter specific hybrids in both experiment decreased linearly in response to increasing saline stress. Recorded data in Petri dish and plastic pot were significantly influenced by rootstock, whereas no significant difference was observed on germination rate and vigor index for plastic pot in greenhouse. The lowest seed germination percentage, seedling growth, vigor index and root: shoot ratio recorded on high saline concentration. NaCl threshold damage to cucurbits was evaluated 4 ds/m. Populations of *C. maxima* cv. *Kermanshah* and *Shahreza*, *C.moschata* cv. *Isfahan* and inters pecific hybrids *Ferro*, 909 and 910 were showed tolerant to salinity. It is proven that crop growth decreases with increasing saline stress (Rouphael, et al., 2012). Hybrids of *C. moschata* cv. *Koshk*, *C. pepo* cv. *Koshk* and *Asgharabad*, *Lagenaria Siceraria*, Es113 and *Cucurbita pepo* con. *Pepo* var. *Styriaca* were sensitive to saline stress. Kumar et al, (2008) also reported plant response to salinity depends on type of salt, salt concentration and plant genotype.

**Conclusions:** Salinity stress adversely affect biomass and leaf water content of cucurbita. Our results indicated that local and hybrid cucurbit plants exhibited different response to saline stress. Hybrid rootstocks

1 -Assistant Professor of Crop and Horticultural Science Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Isfahan, Iran

(\*- Corresponding Author Email: Farhadi\_siv@yahoo.com)

2, 3- Associate Professor and Assistant Professor of Horticultural Department, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Assistant Professor of Horticultural science Department, Agriculture Faculty, Tehran University, Tehran, Iran

5 – Professor of Food and Environment Department, Agriculture Faculty, Catania University, Catania, Italy

909, 910 and Ferro were tolerant to salinity. Although local landrace *C. maxima* cv. Shahreza and Kermanshah, *C. moschata* cv. Isfahan and *C. pepo* cv. Tiran were tolerant to salinity. Sensitivity to saline stress was similar between some local landrace and hybrid plants. Finally, after grafting in cucurbita rootstocks needs more research to use water, wast water, NaCl and other resources of salinity and to find the most tolerant rootstock.

**Keywords:** Salinity tolerance, Germination, Seedling Growth, Vigor index



## تأثیر نیتروژن و حذف محلول غذایی یک هفته قبل از برداشت بر تجمع نیترات و خصوصیات رشدی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)

محمد صادق صادقی<sup>۱\*</sup> - سید جلال طباطبایی<sup>۲</sup> - حسن بیات<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۱

### چکیده

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) گیاهی است که نیتروژن به فرم نیترات را به مقدار زیاد در بافت‌های خود تجمع می‌دهد. به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف نیتروژن و حذف محلول غذایی در یک هفته قبل از برداشت بر صفات رشدی و میزان تجمع نیترات، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تکرار انجام شد. فاکتور اول در ۲ سطح شامل حذف (حذف محلول غذایی ۱ هفته قبل از برداشت) یا عدم حذف محلول غذایی و فاکتور دوم شامل غلظت‌های مختلف نیتروژن در ۴ سطح (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. گیاهان بصورت آبکشت پرورش داده شدند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت نیتروژن از ۲۵ به ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مقادیر وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد برگ و سطح برگ به ترتیب ۲۲/۰۰، ۷/۲۶، ۴/۹۷ و ۱۴/۰۰ برابر افزایش یافت. همچنین کاربرد نیتروژن باعث افزایش میزان شاخص کلروفیل و حداکثر کارایی فتوسنتز (Fv/Fm) II شد. حذف محلول غذایی در یک هفته قبل از برداشت تأثیر معنی‌داری در کاهش مقادیر صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد و سطح برگ، شاخص کلروفیل و حداکثر کارایی فتوسنتز II نداشت. افزایش غلظت نیتروژن سبب افزایش نیترات و نیتروژن کل دمبرگ گیاه شد در حالی که با حذف محلول غذایی در یک هفته قبل از برداشت مقادیر صفات فوق‌الذکر به طور معنی‌داری کاهش یافت. حذف محلول غذایی یکی از راهکارهای مناسب برای کاهش تجمع نیترات در گیاه اسفناج می‌باشد که تأثیری در کاهش عملکرد محصول ندارد.

واژه‌های کلیدی: آبکشت، سطح برگ، شاخص کلروفیل

### مقدمه

نسبتاً کوتاهی است (۴۰ تا ۵۰ روز) و می‌توان چندین بار در سال اقدام به کشت آن نمود. اسفناج دارای انواع بهاره، پاییزه و زمستانه است (۱۶).

تجمع نیترات در برخی از سبزیجات مانند اسفناج و کاهو قابل ملاحظه است (۲۲ و ۲۳) و مصرف زیاد کودهای نیتروژنه به خصوص به فرم نیترات از عوامل مهم افزایش غلظت نیترات گیاه است. اسفناج گیاهی است که پاسخ بسیار مناسبی به کوددهی با نیترات می‌دهد (۴، ۵ و ۲۰) و نیترات را به مقدار زیاد در بافت‌های خود تجمع می‌دهد و مقادیر زیادی اکسالات دارد (۱۰). نیترات در گیاه معمولاً در آوندها ذخیره می‌شود بنابراین دمبرگ‌ها و ساقه‌ها مملو از نیترات هستند. نیترات یکی از مواد سمی بوده که سلامتی انسان و حتی حیوانات را تهدید می‌کند (۲۲ و ۱۱). البته نیترات خودش یک ماده سمی برای انسان محسوب نمی‌شود ولی نیتريت حاصل از احیای نیترات و مواد حاصل از آن مثل نیتروزآمین‌ها در معده سبب بوجود آمدن بعضی بیماری‌ها می‌گردد. حد مجاز مقدار نیترات در کشور آلمان ۲۵۰ میلی‌گرم در یک کیلوگرم وزن تر اعلام شده است (۱۶ و ۲۱).

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) گیاهی یکساله و روزبلند متعلق به خانواده چغندر (Chenopodiaceae) است که پس از سبزی شدن، تولید برگ‌های طوقه ای می‌کند. این گیاه محصول نواحی نسبتاً سرد است و در آب هوای خنک بهتر رشد می‌کند (۱۶). اسفناج بومی ایران است و از اوایل قرن اول میلادی به تدریج به دیگر نقاط دنیا راه یافت (۲۵). به طور کلی اسفناج در مجاورت تابش زیاد آفتاب، دمای متوسط و هوای مرطوب بهترین نتیجه را می‌دهد. یخبندان را بیشتر از اغلب سبزی‌های دیگر تحمل می‌کند. بعضی ارقام آن تا سرمای ۷- درجه را نیز تحمل می‌کنند. این گیاه دارای دوره رویش

۱ و ۲- دانش‌آموخته و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

\*- نویسنده مسئول: (Email: mohammadsadeqesadeqi\_1366@yahoo.com)

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران  
DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.52452

سدیم استریل و سپس با آب مقطر سه بار شستشو داده شدند. در مرحله بعد بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل و در تاریکی خیسانده شدند. برای ضدعفونی کردن کاغذهای صافی نیز از اتوکلاو با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد استفاده شد. سپس بذرها توسط انبرک استریل در تشتک‌هایی به ابعاد ۳۰×۱۹ سانتی متر که کاغذ صافی در آن‌ها قرار گرفته بود با فاصله یکسان ۱ سانتی متری قرار گرفته و درب آن‌ها به منظور محافظت از تبخیر و آلودگی بسته شد. تشتک‌ها تا زمان جوانه زدن در تاریکی و دمای ۲۴-۲۶ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و سپس به روشی انتقال یافتند.

#### کشت هیدروپونیک گیاهچه‌های اسفناج

بذور جوانه زده اسفناج به ظروف با بستر پشم شیشه منتقل شدند و تا مرحله ۴ برگی در همین ظروف با محلول کامل تغذیه شدند. در این زمان گیاهچه‌های ۴ برگی اسفناج به داخل سطل‌هایی از جنس پلی اتیلن حاوی ۱۰ لیتر محلول غذایی منتقل شدند. برای استقرار گیاهچه‌ها از صفحات یونولیتی که بصورت شناور در روی محلول قرار داشتند استفاده شد. اکسیژن لازم برای تنفس ریشه‌ها از طریق پمپ‌های هوا تامین شد (۱۴).

برای تغذیه از ۴ محلول غذایی (تیمارها) با غلظت‌های مختلف نیتروژن استفاده شد. برای هر تیمار ۶ تکرار (۶ گلدان) در نظر گرفته شد و هر گلدان به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. گیاهان در هر گلدان با تیمارهای مورد نظر تا قبل از برداشت تغذیه شدند و تعویض محلول‌ها هفته‌ای یکبار انجام شد و هر ۴۸-۷۲ ساعت یکبار محلول تبخیر شده از ظرف بوسیله محلول ۱۰ درصد جایگزین شد. طی دوره رشد در گلخانه، دما بین ۲۴-۲۷ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد و فتوپریود شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. یک هفته قبل از برداشت، محلول غذایی نیمی از گلدان‌ها حذف شد و تا زمان برداشت از آب خالی استفاده شد. قبل از برداشت فاکتورهای شاخص کلروفیل و حداکثر کارایی فتوسیستم II اندازه گیری شد و سپس گیاهان جهت بررسی دیگر فاکتورها برداشت شدند.

#### صفات اندازه گیری شده

در این آزمایش صفات رشدی شامل تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی اندازه گیری شدند. پس از برداشت، برگ‌ها را از بوته جدا کرده و تک تک در زیر دستگاه سطح برگ سنج قرار داده شد و عدد نشان داده شده توسط دستگاه یادداشت شد.

#### شاخص کلروفیل (عدد اسپد)

جهت اندازه گیری شاخص کلروفیل از دستگاه اسپد Konica Minolta استفاده شد بدین صورت که از هر گیاه ۵ برگ بیرونی و ۳

مقدار نیترات موجود در برگ‌ها تحت تاثیر عوامل مختلف از قبیل دما، نور، مقدار نیترات بکار برده شده در محیط کشت و ژنتیک گیاه قرار می‌گیرد. مصرف زیاد از حد نیتروژن علاوه بر افزایش تجمع نیترات باعث کاهش مقدار ویتامین ث در انواع سبزی‌ها نظیر کاهو، کلم و اسفناج تا حد ۲۶ درصد می‌شود (۲۱).

زارعی (۲۷) در تحقیقات خود در ارتباط با تاثیر کودهای نیتروژنی در تجمع نیترات برگ‌های کاهو به این نتیجه رسید که کاهو جزو سبزی‌های نیترات دوست بوده ولی مقدار تجمع نیترات بستگی به نوع رقم، طول مدت روز، درجه حرارت و شدت تابش نور خورشید دارد. همچنین با افزایش مصرف کودهای نیتروژنی تا حد ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار آوره، حتی به صورت سه بار تقسیط، مقدار نیترات تجمعی تا حد ۶۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر تازه کاهو افزایش یافت. هنگامیکه برداشت کاهو بجای عصر در صبح انجام گرفت از غلظت نیترات تجمعی تا حد ۲۰ درصد کاسته شد. با افزایش مصرف کودهای نیتروژنی و برداشت صبح هنگام غلظت نیترات در کلم پیچ افزایش می‌یابد. ولی همین سبزی وقتی که عصر هنگام همان روز برداشت شد غلظت نیترات آن تا حد زیادی کاهش یافت. بنابراین افزایش شدت نور باعث کاهش نیترات در برگ‌ها می‌شود. غلظت نیترات در محصولات گلخانه‌ای به دلیل پایین تر بودن شدت نور بیشتر است (۲۱). تحقیق حاضر به منظور بررسی تاثیر نیتروژن و حذف محلول غذایی در یک هفته قبل از برداشت بر تجمع نیترات و خصوصیات رشدی گیاه اسفناج انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

### محل و زمان اجرای آزمایش

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی هیدروپونیک گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۰ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار انجام شد. فاکتور اصلی در ۲ سطح شامل حذف (حذف محلول غذایی ۱ هفته قبل از برداشت که حدوداً زمان برداشت مرحله ۷ تا ۸ برگی است) یا عدم حذف محلول غذایی (محلول غذایی تا زمان برداشت تغییری نکرد) و فاکتور فرعی شامل غلظت‌های مختلف نیتروژن (نیتراتی) در ۴ سطح (۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بودند. در هر تیمار ۶ بوته در نظر گرفته شد. بوته‌ها در گلدان‌های ۱۰ لیتری بصورت شناور بر روی یونولیت قرار داده شدند.

### آماده سازی گیاهان و بسترهای کاشت

ابتدا بذرهای سالم اسفناج رقم چروک Wirofly با اندازه‌های تقریباً یکسان و عاری از آسیب و شکستگی با آب و صابون بمدت ۲ دقیقه شستشو و سپس در محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت

برگ درونی و در هر برگ از ۴ قسمت اندازه گیری‌ها انجام شد.

### حداکثر کارایی فتوسیستم II (نسبت Fv/Fm)

برای اندازه گیری حداکثر کارایی فتوسیستم II از دستگاه فلورومتر (Opti-Science, OS-30p London) و از برگ‌های تازه بالغ شده استفاده شد.

### نیترات و نیتروژن کل

برای اندازه گیری نیترات، مقدار ۰/۱ گرم ماده خشک گیاهی در حدود ۲۰ میلی لیتر اسید استیک ریخته و به آن‌ها حدود ۲ گرم زغال فعال اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در این شرایط قرار گرفتند. سپس میزان نیترات با استفاده از دستگاه نیترات سنج مدل Horiba اندازه گیری شد. جهت سنجش نیتروژن از دستگاه کج‌دال استفاده شد (۲۶).

### تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم افزار JMP8 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

### نتایج و بحث

#### وزن تر و خشک اندام هوایی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اثر سطوح مختلف نیتروژن بر وزن تر و خشک اندام هوایی معنی دار شد (جدول ۱). با افزایش غلظت نیتروژن وزن تر اندام هوایی به صورت صعودی افزایش یافت بطوریکه بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی از غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نیتروژن بدست آمد (جدول ۲). اثر حذف محلول غذایی تاثیر چندانی بر میزان کاهش وزن تر نداشت (جدول ۲). اثر متقابل سطوح نیتروژن و حذف محلول غذایی معنی دار نشد (جدول ۱).

#### وزن تر و خشک ریشه

وزن تر و خشک ریشه گیاهان هم به تبع افزایش میزان نیتروژن افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان وزن تر و خشک ریشه در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و کمترین وزن تر و خشک ریشه در تیمار ۲۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲). همچنین با بررسی اثر حذف محلول غذایی در حدود ۱ هفته قبل از برداشت مشخص شد که حذف محلول غذایی اثر معنی داری بر روی کاهش وزن تر ریشه نداشته است (جدول ۱ و ۲). اثر متقابل سطوح نیتروژن و حذف محلول

غذایی معنی دار نشد (جدول ۱). در تحقیقات بوتو و همکاران (۳) بر روی گیاه گوجه فرنگی مشخص شد که افزایش سطوح نیتروژن سبب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه می‌شود و حذف نیتروژن از محلول غذایی تاثیر معنی داری بر روی کاهش این صفات ندارد. همچنین الیا و همکاران (۸) گزارش کردند که افزایش میزان نیتروژن سبب افزایش عملکرد گیاه اسفناج می‌شود. صادقی پورمروری (۱۸) در تحقیقات خود بر روی گیاه اسفناج گزارش کرد که با افزایش مصرف کود، عملکرد گیاه نیز افزایش پیدا کرد. احمدی و همکاران (۱) نشان دادند که با افزایش غلظت کود نیتروژنه میزان وزن تر و خشک اندام هوایی افزایش پیدا می‌کند.

### تعداد و سطح برگ

افزایش غلظت نیتروژن سبب افزایش معنی دار تعداد برگ‌ها شد بطوریکه بیشترین و کمترین تعداد برگ از تیمارهای ۲۰۰ و ۲۵ میلی گرم در لیتر نیتروژن حاصل شد (جدول ۲). نیتروژن عنصری است که رشد رویشی را افزایش می‌دهد (۱۱). احمدی (۱) در بررسی‌هایی که بر روی ۵ رقم اسفناج ایرانی انجام داد مشاهده کرد که در اثر افزایش مصرف کود نیتروژنه تعداد برگ‌ها بطور معنی داری افزایش یافت. همچنین الیا و همکاران (۸) مشاهده کردند که در اثر افزایش مصرف نیتروژن، تعداد برگ‌ها در گیاه اسفناج افزایش یافت. همچنین حذف محلول غذایی در حدود ۱ هفته قبل از برداشت هیچ تاثیری بر روی تعداد برگ‌ها نداشت و تغییری از این نظر مشاهده نشد. بوت (۳) در تحقیقات خود که تاثیر حذف نیتروژن از محلول غذایی گوجه فرنگی را بررسی می‌کرد دریافت که حذف نیتروژن سبب کاهش معنی داری تعداد برگ‌ها در گیاه گوجه فرنگی می‌شود.

### حداکثر کارایی فتوسیستم II (نسبت Fv/Fm)

حداکثر کارایی فتوسیستم II در بین تیمارهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نیتروژن اختلاف معنی داری نداشت ولی بین این تیمارها با تیمار ۲۵ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری مشاهده شد. حداکثر کارایی فتوسیستم II از تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نیتروژن حاصل شد. با توجه به اینکه حداکثر کارایی فتوسیستم II معیاری برای ارزیابی وضعیت گیاهان تحت شرایط تنش می‌باشد نتایج نشان می‌دهد که در تیمار ۲۵ میلی گرم نیتروژن به گیاهان نوعی تنش وارد شده است. نیتروژن پس از جذب در گیاه وارد ساختمان اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها شده و در شرایطی که کمبود این عنصر مشاهده شود به دلیل کاهش فعالیت‌های متابولیکی در گیاهان و کمبود آنزیم‌ها، رشد گیاهان کاهش پیدا کرده و به نوعی گیاهان تحت تنش قرار می‌گیرند (۷).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر حذف محلول غذایی و سطوح مختلف نیتروژن بر صفات مورد بررسی اسفناج رقم برگ چروک *Wirofly* تحت سیستم آبکشت.

Table 2- Effects of nutrient removal and different levels of nitrogen on measured traits of spinach cv. *Wirofly* under hydroponic culture.

| تیمار                        | وزن تر اندام هوایی           | وزن تر ریشه                 | وزن خشک اندام هوایی        | وزن خشک ریشه              | تعداد برگ                | سطح برگ                      | عدد اسپد   | نسبت Fv/Fm | نیترات             | نیتروژن کل        |
|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------------|------------|------------|--------------------|-------------------|
| Treatment                    | Shoot fresh weight (g/plant) | Root fresh weight (g/plant) | Shoot dry weight (g/plant) | Root dry weight (g/plant) | Number of leaf per plant | Leaf area (cm <sup>2</sup> ) | SPAD value | Fv/Fm      | Nitrate (mg/kg dw) | Total N (mg/g dw) |
| حذف محلول غذایی              |                              |                             |                            |                           |                          |                              |            |            |                    |                   |
| Nutrient removal             |                              |                             |                            |                           |                          |                              |            |            |                    |                   |
| حذف                          | 187.17a*                     | 56.82a                      | 12.11a                     | 5.63a                     | 15.66a                   | 499.52a                      | 50.00a     | 0.81a      | 1325.71b           | 1763.06b          |
| Removed                      |                              |                             |                            |                           |                          |                              |            |            |                    |                   |
| عدم حذف                      | 191.60a                      | 56.27a                      | 12.34a                     | 5.61a                     | 15.91a                   | 506.86a                      | 51.09a     | 0.82a      | 1693.22a           | 2406.88a          |
| Unremoved                    |                              |                             |                            |                           |                          |                              |            |            |                    |                   |
| سطوح نیتروژن N levels (mg/L) |                              |                             |                            |                           |                          |                              |            |            |                    |                   |
| 25                           | 19.60d                       | 10.65d                      | 2.84d                      | 1.18d                     | 5.33d                    | 89.23d                       | 25.96b     | 0.71b      | 428.60d            | 632.00d           |
| 50                           | 121.99c                      | 53.25c                      | 10.10c                     | 4.36c                     | 11.33c                   | 177.69c                      | 58.08a     | 0.81a      | 902.85c            | 1537.85c          |
| 100                          | 184.40b                      | 75.59b                      | 15.71b                     | 7.57b                     | 20.00b                   | 460.23b                      | 57.81a     | 0.84a      | 1851.46b           | 2487.12b          |
| 200                          | 431.52a                      | 86.67a                      | 20.62a                     | 9.36a                     | 26.50a                   | 1285.61a                     | 58.31a     | 0.86a      | 2854.94a           | 3682.88a          |

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column don't significant difference based on LSD test at 5% level probability.

در شرایط کمبود نیتروژن به دلیل کاهش آنزیم‌ها خصوصاً آنزیم‌های دخیل در فرآیند فتوسنتز نظیر پی ای پی کربوکسیلاز، میزان فتوسنتز کاهش یافته و گیاهان دچار تنش می‌شوند (۲). همچنین حذف محلول غذایی در حدود یک هفته قبل از برداشت که به منظور کاهش نیترات در اندام‌های هوایی انجام شد تأثیر معنی‌داری بر روی میزان حداکثر کارایی فتوسیستم II نداشت (جدول ۱). در بررسی‌هایی که بوت و همکاران (۳) بر روی حذف نیترات از محلول

1 - PEP Carboxylase

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه اسفناج رقم برگ چروک *Wirofly* تحت سیستم آبکشت.

Table 1-ANOVA for measured traits of spinach cv. *Wirofly* under hydroponic culture.

| درجه                      | وزن تر اندام هوایی      | وزن تر ریشه           | وزن خشک             | وزن خشک                  | تعداد برگ                | سطح برگ               | نسبت                  | نیترات                   | نیتروژن کل                |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| Treatment                 | Shoot fresh weight      | Root fresh weight     | Shoot dry weight    | Root dry weight          | Number of leaf per plant | Leaf area             | Fv/Fm                 | Nitrate                  | Total N                   |
| حذف محلول غذایی           |                         |                       |                     |                          |                          |                       |                       |                          |                           |
| Nutrient removal          |                         |                       |                     |                          |                          |                       |                       |                          |                           |
| نیتروژن N                 | 119.60 <sup>ns</sup>    | 1.79 <sup>ns</sup>    | 0.002 <sup>ns</sup> | 324.00 <sup>ns</sup>     | 0.37 <sup>ns</sup>       | 0.00001 <sup>ns</sup> | 0.00001 <sup>ns</sup> | 810389.00 <sup>**</sup>  | 2487019.00 <sup>**</sup>  |
| حذف محلول غذایی × نیتروژن | 184025.80 <sup>**</sup> | 6774.30 <sup>**</sup> | 78.20 <sup>**</sup> | 1782672.00 <sup>**</sup> | 523.20 <sup>**</sup>     | 0.018 <sup>**</sup>   | 0.018 <sup>**</sup>   | 6926984.00 <sup>**</sup> | 10251057.00 <sup>**</sup> |
| نیتروژن × N               | 14.60 <sup>ns</sup>     | 0.032 <sup>ns</sup>   | 0.04 <sup>ns</sup>  | 390.00 <sup>ns</sup>     | 0.81 <sup>ns</sup>       | 0.00001 <sup>ns</sup> | 0.00001 <sup>ns</sup> | 62098.00 <sup>**</sup>   | 79209.00 <sup>**</sup>    |
| خطا Error                 | 173.10                  | 3.49                  | 0.06                | 536.00                   | 2.33                     | 0.0002                | 0.0002                | 5156.00                  | 10982.00                  |

ns و \*\* به ترتیب عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد.

ns and \*\* not significant and significant at 1% probability, respectively.

عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه ندارد. تحقیق صورت گرفته توسط صفایی (۱۹) بر روی کاهو نشان داد که حذف محلول غذایی کاهو قبل از برداشت بر روی شاخص کلروفیل تاثیر معنی داری نداشت.

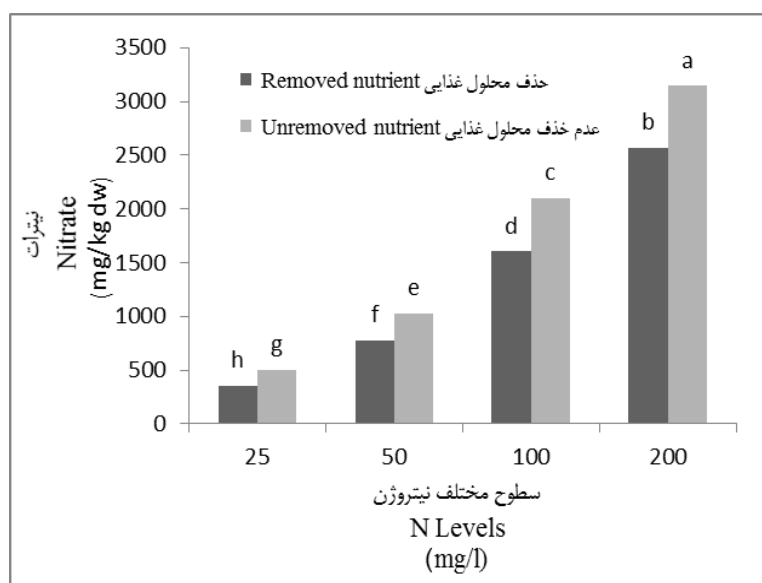
### نیترات

افزایش مصرف نیتروژن سبب افزایش تجمع نیترات در دمبرگ‌های گیاه اسفناج شد بطوریکه بیشترین تجمع نیترات در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و کمترین تجمع در تیمار ۲۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین مقدار نیترات دمبرگ از تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نیتروژن و تیمار عدم حذف محلول غذایی و کمترین میزان نیترات از تیمار ۲۵ میلی گرم در لیتر نیتروژن و تیمار حذف محلول غذایی بدست آمد (شکل ۱). منبع اصلی ذخیره نیتروژن برای گیاهان عالی نیترات می باشد (۱۲). نیترات جذب شده بوسیله گیاه در واکوئل ذخیره شده و یا در آوند چوبی انتقال می یابد که عموماً مقدار زیاد آن در واکوئل مانده و برای استفاده وارد سیتوزول می شود (۶). تجمع نیترات در برخی از سبزیجات برگی بسیار قابل ملاحظه است (۲۱) و مصرف زیاد کودهای نیتروژنه به خصوص به فرم نیترات از عوامل مهم در افزایش غلظت نیترات در گیاه است. اسفناج گیاهی است که پاسخ بسیار مناسبی به کوددهی با نیترات می دهد (۴ و ۵) و این ماده را به مقدار زیاد در خود تجمع می دهد (۱۰). همچنین اسفناج سیستم کار آمدی در جذب نیترات و سیستم ناکارآمدی در استفاده از آن دارد و به همین دلیل نیترات در آن تجمع می یابد (۱۳).

غذایی گیاه گوجه فرنگی انجام دادند هم مشخص شد که این تیمار تاثیر چندانی بر روی کاهش حداکثر کارایی فتوسیستم II ندارد و گیاهان را دچار تنش نمی کند. اثر متقابل حذف محلول غذایی و سطوح مختلف نیتروژن نیز معنی دار نشد (جدول ۱).

### شاخص کلروفیل (عدد اسپد)

نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش میزان نیتروژن از ۲۵ به ۲۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش معنی دار شاخص کلروفیل شد و میزان آن را ۱/۲ برابر افزایش داد و بین تیمارهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲). نیتروژن عنصری ساختاری در ساختمان پروتئین‌ها، پورین‌ها و کلروفیل می باشد. در ساختمان کلروفیل منیزیم در مرکز قرار گرفته و بوسیله ۴ نیتروژن احاطه شده است (۲۴). از این رو کمبود نیتروژن سبب کاهش کلروفیل می شود. همچنین حذف محلول غذایی بر روی شاخص کلروفیل تاثیر چندانی نداشت و کاهشی در آن مشاهده نشد (جدول ۲). گیاهان در شرایط کمبود نیتروژن، از نیتروژن ذخیره شده در واکوئل استفاده می کنند (۲). اسفناج گیاهی است که نیتروژن را بیشتر از نیاز خود جذب می کند و در واکوئل ذخیره می کند (۱۳). عبارت دیگر گیاهی است که سیستم بسیار کارآمدی در جذب نیتروژن دارد (۵). بنابراین بنظر می رسد در طول مدت حذف محلول غذایی به دلیل کوتاه بودن این دوره، گیاه از نیتروژن ذخیره شده استفاده می نماید و به همین دلیل از این نظر تاثیری بر روی ویژگی‌های



شکل ۱- برهمکنش حذف محلول غذایی × سطوح مختلف نیتروژن بر غلظت نیترات دمبرگ اسفناج رقم چروک Wirofly تحت سیستم آبکشت

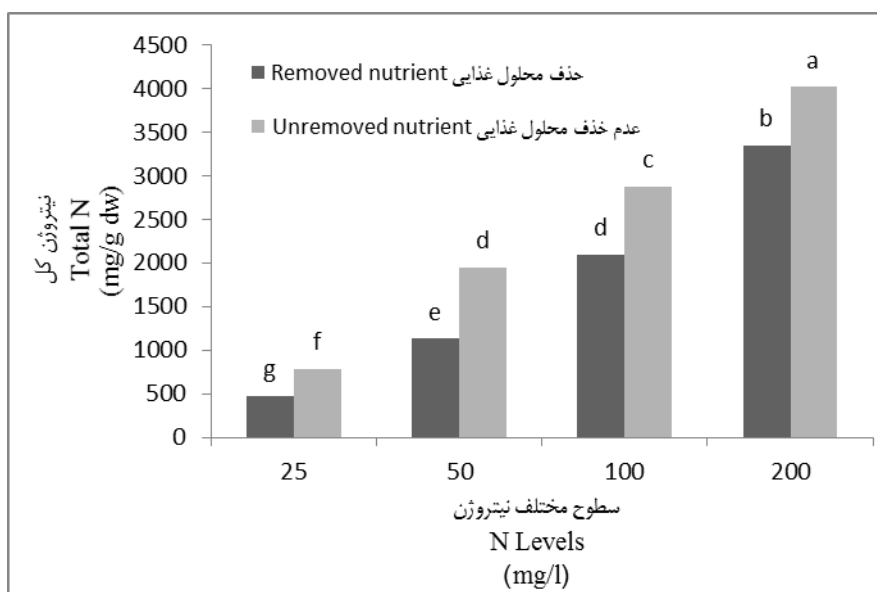
Figure 1- Interaction effects of nutrient removal × different levels of nitrogen on nitrate concentration of spinach cv. Wirofly petiole in hydroponic culture



### نیتروژن کل

افزایش مصرف نیتروژن سبب افزایش غلظت نیتروژن کل در اندام‌های هوایی گیاه اسفناج شد (جدول ۲). بیشترین مقدار نیتروژن کل دمبرگ از تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن و تیمار عدم حذف محلول غذایی و کمترین میزان نیتروژن کل از تیمار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر نیتروژن و - تیمار حذف محلول غذایی بدست آمد (شکل ۱). بررسی‌های احمدی (۱)، الیا (۸)، گلسر (۹)، رستم پور و همکاران (۱۷)، صادقی پور مروی (۱۸)، طباطبایی (۲۲)، مینارد (۱۳) و پاولوویچ (۱۵) مشخص شد که افزایش مصرف کود نیتروژنه سبب افزایش غلظت نیتروژن کل در گیاه می‌شود. از طرفی حذف محلول غذایی در یک هفته قبل از برداشت سبب کاهش غلظت نیتروژن کل شد (جدول ۲) که با نتایج طباطبایی (۲۲) مطابقت داشت.

رستم پور و همکاران (۱۷) در بررسی که بر روی گیاه پیاز انجام دادند مشاهده نمودند که با افزایش مصرف کود نیتروژنه میزان نیترات در آن افزایش پیدا کرد. همچنین این نتایج با نتایج حاصل از احمدی (۱)، الیا (۸)، گلسر (۹) و صادقی پور مروی (۱۸) مطابقت دارد. حذف محلول غذایی در حدود یک هفته قبل از برداشت که به منظور کاهش تجمع نیترات در دمبرگ‌های گیاه انجام شد سبب کاهش تجمع نیترات در دمبرگ‌های گیاه اسفناج گردید (جدول ۲). اسفناج گیاهی است که نیترات را به مقدار زیاد جذب نموده و در واکوئل ذخیره می‌نماید از این رو در طول دوره حذف محلول غذایی از ذخیره نیتراتی استفاده نموده که به همین دلیل سبب کاهش نیترات آن شده است. در بررسی صفایی (۱۹) بر روی کاهو که با حذف محلول غذایی انجام شد هم نتایج مشابهی بدست آمد و حذف محلول غذایی تاثیر معنی‌داری بر روی کاهش تجمع نیترات در دمبرگ‌های گیاه گذاشت.



شکل ۲- برهمکنش حذف محلول غذایی × سطوح مختلف نیتروژن بر نیتروژن کل دمبرگ اسفناج رقم برگ چروک Wirofly تحت سیستم آبکشت.

Figure 2- Interaction effects of nutrient removal × different levels of nitrogen on total nitrogen of spinach cv. Wirofly petiole in hydroponic culture.

از برداشت تاثیر معنی‌داری در کاهش میزان تمام صفات مورد بررسی نداشت و تجمع نیترات و نیتروژن کل دمبرگ را تا حد زیادی کاهش داد. بنابراین حذف محلول غذایی یکی از راهکارهای مناسب برای کاهش تجمع نیترات می‌باشد که تاثیری در کاهش عملکرد محصول ندارد. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، کاربرد نیتروژن با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه حذف محلول غذایی یک هفته قبل از برداشت برای پرورش آبکشت اسفناج قابل توصیه بوده و مقدار تجمع نیترات آن کمتر از حد مجاز است.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که افزایش غلظت نیتروژن سبب افزایش شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن خشک و تر اندام هوایی و ریشه، تعداد و سطح برگ شد بطوریکه بیشترین افزایش غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین در اثر افزایش غلظت نیتروژن، میزان نیترات و نیتروژن کل دمبرگ افزایش پیدا کرد بطوریکه بیشترین غلظت‌های نیترات و نیتروژن کل در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. حذف محلول غذایی در یک هفته قبل

## منابع

- 1- Ahmadi H., Akbarpour V., Dashti F., and Shojaeian A. 2010. Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian spinach accessions. *Amer-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 8:468-473.
- 2- Baldry C.W., Bucke C., Coombs J., and Goss D. 1970. Phenols, phenoloxidase, and photosynthetic activity of chloroplasts isolated from sugar Cane and Spinach. *Planta*, 94:107-123.
- 3- Bot J., Jeannequin B., and Fabre R. 2001. Growth and nitrogen status of soilless tomato plants following nitrate withdrawal from the nutrient solution. *Annals of Botany*, 88:361-370.
- 4- Breimer T. 1982. Environmental factors and cultural measures affecting the nitrate content in spinach. *Fertilizer Research journal*, 3:191-292.
- 5- Cantliffe D. 1992. Nitrate accumulation in vegetable crops as affected by photoperiod and light duration (beets, radish, spinach, beans). *Journal of American Society and Horticultural Science*, 97:414-418.
- 6- Cardenas-Navarro R., Adamowicz S., and Robin P. 1999. Nitrate accumulation in plants: a role for water. *Journal of Experimental Botany*, 50:613-624.
- 7- Chapin F. S., Walter C. H.S., and Clarkson D.T. 1998. Growth response of barley and tomato to nitrogen stress and its control by abscisic acid, water relations and photosynthesis. *Planta*, 173: 352-366.
- 8- Elia A., Santamaria P., and Serio F. 1999. Nitrogen nutrition, yield and quality of spinach. *Journal of Food Science and Agriculture*, 76:341-346.
- 9- Gulser F. 2005. Effect of ammonium sulphate and urea on  $\text{NO}_3$  accumulation, nutrient contents and yield criteria in spinach. *Scinetia Horticulture*, 106:330-340.
- 10- Honow R., and Hesse A. 2002. Comparison of extraction methods for the determination of soluble and total oxalate in foods by HPLC-enzyme reactor. *Food Chemistry*, 78:511-521.
- 11- Malakouti M. J., and Tabatabaei S. J. 1997. Nutrition of plants by spraying. Publish agricultural education, Karaj, Iran.
- 12- Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plant. Academic, London.
- 13- Maynard D. N., Barker A.V., Minotti P.L., and Peck H. H. 1976. Nitrate accumulation in vegetables. *Advanced Agronomy*, 28:71-118.
- 14- Mokhtari A. 2008. Study the effect of calcium on improvement of damages caused by salt stress in tomato (*Lycopersicum esculentum*) plants. Master Thesis, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad.
- 15- Pavlovic R., Petrovic S., and Stevanovic D. 1996. The influence of cultivar and fertilization on yield and  $\text{NO}_3\text{-N}$  accumulation in spinach leaf. *Acta Horticulture*, 456: 269-273.
- 16- Peivast G. 2009. Growing Vegetables. Gilan University Press.
- 17- Rostamifrodi B., Kashi A., Babalar M., and Lessani H. 1999. Effect of different amounts of urea on nitrate accumulation and changes in phosphorus and potassium contents of leaves and bulbos of onion cultivar (*Allium cepa* L.). *Iranian journal of Agricultural Science*, 30: 55-64. (in Persian with English abstract).
- 18- Sadeghi Pour Marvi M. 2010. Nitrogen use efficiency of spinach. *Journal of Water and Soil*, 24: 244-253. (in Persian with English abstract).
- 19- Safaei M., Panahandeh J., Tabatabaei S. J., and Motallebiazar A. 2014. Effect of nutrient solution on growth and some physiological characters of hydroponically grown lettuce. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 5: 145-153. (in Persian with English abstract).
- 20- Stagnari F., Bitetto V. D., and Pisante M. 2007. Effects of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Scientia Horticulture*, 114: 225-233.
- 21- Tabatabaei S. J. 2009. Mineral Nutrition of Plants. Publishing author.
- 22- Tabatabaei S. J., and Malakouti M. J. 1997. The effect of nitrogen fertilizers on nitrate accumulation in potato. *Journal of Water and Soil*, 1: 33-39. (In Persian with English abstract).
- 23- Tabatabaei S. J., Nazari M. J., Fakhrzad F., Azari F., and Ashtari S. 2005. Evaluation of nitrate concentration in vegetables of Tabriz city. *Horticultural science congress*, Tehran.
- 24- Taiz L., and Ziger E. 2010. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- 25- Tavakoli Saberi M., and Sedaghat M. 1994. *Medicinal Plants*. Sales Press.
- 26- Waling I., Vark W. V., Houba V. J. G., and Van der Lee J. J. 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi. Part 7, *Plant Analysis Procedures*. Wageningen Agricultural University, The Netherlands.
- 27- Zarei H., Behtash F., and Malakouti M. J. 1996. The effect of different amounts of urea in the accumulation of nitrate in vegetables, lettuce, spinach, cabbage and celery. *Proceedings of the Fifth Congress of Soil Science Iran*, Karaj, Iran.



## Effects of Nitrogen and Nutrient Removal on Nitrate Accumulation and Growth Characteristics of Spinach (*Spinacia oleraceae* L.)

M. S. Sadeghi<sup>1\*</sup> - S. J. Tabatabai<sup>2</sup> - H. Bayat<sup>3</sup>

Received: 05-01-2016

Accepted: 21-12-2016

**Introduction:** Spinach is a leafy vegetable which is rich source of vitamins, antioxidant compounds (e.g. flavonoids, acid ascorbic) and essential elements (e.g. Fe, and Se). Spinach is capable of accumulating large amounts of nitrogen in the form of nitrate in shoot tissues which is undesirable in the human diet. The concentration of nitrate in plants is affected by species, fertilizer use, and growing conditions. Green leafy vegetables such as spinach, generally contain higher levels of nitrate than other foods. Nitrate of plant tissues levels are clearly related to both form and concentration of N fertilizers applied. Nitrogen fertilizers have been known as the major factors that influence nitrate content in vegetables. Ideally, the N fertility level must be managed to produce optimum crop yield without leading to excessive accumulation of nitrate in the harvested tissues. Using high amounts of N fertilizer produced higher yield with higher nitrate in leaves but the highest amount of nitrate was accumulated in the petioles. There are several plant species that may accumulate nitrate, including the *Brassica* plants, green cereal grains (barley, wheat, rye and maize), sorghum and Sudan grasses, corn, beets, rape, docks, sweet clover and nightshades. The presence of nitrate in vegetables, as in water and generally in other foods, is a serious threat to man's health. Nitrate is relatively non-toxic, but approximately 5% of all ingested nitrate is converted in saliva and the gastrointestinal tract to the more toxic nitrite. This study was aimed to investigate the effects of nitrogen and nutrient removal on nitrate accumulation and growth characteristics of spinach (*Spinacia oleraceae* L.).

**Materials and Methods:** A pot hydroponic experiment was carried out to evaluate the effect of different levels of nitrogen and nutrient removal (one week before harvest) on nitrate accumulation and growth characters. A factorial experiment based on completely randomized design was conducted with two levels of removal (removal of nutrient one week before harvest) or not to remove and four levels of nitrogen (25, 50, 100 and 200 mg/l) with six replications. During the growing season in the greenhouse, temperature was fixed between 24-27 °C and photoperiod of 16 hours of light and 8 hours of darkness. The measured traits were root fresh and dry weight, shoot fresh and dry weight, Fv/Fm ratio, and chlorophyll index, number of leaf per plant, leaf area, nitrate and total nitrogen.

**Results and Discussion:** The results of this experiment showed that increasing nitrogen concentration from 25 to 200 mg/l increased shoot dry weight, number of leaves and leaf area, by 22.00, 7.26, 4.79 and 14.00 fold, respectively. Nitrogen also increased Fv/Fm and chlorophyll index. Nutrient removal in a week before harvest had no significant effect on fresh and dry weight of shoots and roots, number of leaves, leaf area, chlorophyll index and Fv/Fm. Increasing concentrations of nitrogen increased nitrate and total nitrogen in petiole while removing the nutrient solution in a week before harvest significantly decreased amounts of the above-mentioned traits. Nutrient solution removal is an appropriate strategy to reduce nitrate accumulation in spinach that has no effect on yield loss.

**Conclusions:** The results showed that increasing the concentration of nitrogen increased plant growth indicators such as shoot fresh and dry weight, root fresh and dry weight, leaf area and number of leaf per plants, so that the greatest increase was obtained from concentration of 200 mg/lit. Increasing the concentration of nitrogen enhanced nitrate and total nitrogen of petiole so that the highest concentration of nitrate and total nitrogen was observed in 200 mg/lit nitrogen. Nutrient solution removal in a week before the harvest had a significant effect in reducing all traits but it decreased nitrate accumulation and total nitrogen of petiole significantly. At the end of the experiment, it was found that increasing the concentration of nitrogen increased nitrate concentrations and total nitrogen in the petioles while nutrient removal in a week before harvest reduced the amount of leaf nitrate. Therefore the removal of nutrient solution is one of the strategies to reduce nitrate accumulation that had no effect on yield loss of crop. Based on the results from this research, nitrogen at a

1 and 2- MS.c Graduated student and Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(\*- Corresponding Author Email: mohammadsadeqesadeqi\_1366@yahoo.com)

3- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran

concentration of 200 mg/lit, with the removal of nutrient solution a week before harvest is recommended for growing in hydroponic culture of spinach.

**Keywords:** Chlorophyll index, Leaf area, Water culture



## بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.)

مهدی آرآن<sup>۱</sup> - بهرام عابدی<sup>۲\*</sup> - علی تهرانی فر<sup>۳</sup> - مهدی پارسا<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۵

### چکیده

به منظور بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های سه رقم انگور (یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری)، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد. تیمارهای آبیاری در چهار سطح، شامل تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و تیمار آبیاری مجدد پس از تیمار تنش شدید انجام شدند. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، شاخص‌های رشدی، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ‌ها کاهش می‌یابد و در شرایط تنش خشکی شدید رقم یاقوتی دارای بیشترین میزان افزایش ارتفاع (۹/۱۲ سانتیمتر)، تعداد برگ (۳۵/۱۲)، وزن خشک برگ و ساقه (به ترتیب ۴/۹۲ و ۸/۴۱ گرم) و محتوای نسبی آب برگ (۸۵/۴۹ درصد) بود. میزان نشت الکترولیت‌ها، میزان قندهای محلول کل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنلی و پرولین با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی رقم بیدانه سفید دارای بیشترین میزان نشت الکترولیت‌ها بود و رقم یاقوتی بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۵/۳ درصد) و پرولین (۱۱/۱۲ میکرو مول بر گرم وزن خشک) را در شرایط تنش خشکی شدید نسبت به دو رقم دیگر داشت. با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش به نظر می‌رسد که رقم یاقوتی نسبت به دو رقم دیگر به خشکی متحمل‌تر است.

**واژه‌های کلیدی:** پرولین، شاخص‌های رشدی، میزان قندهای محلول، محتوای نسبی آب برگ

### مقدمه

کارآمدی برای انتخاب گیاهان با عملکرد بهتر پیشنهاد شده است که شامل القای تعادل اسمزی بالا، بهره‌وری بالای مصرف آب، مقدار کلروفیل بالا، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا، کاهش کم در مقدار آب نسبی و حفظ ظرفیت رشدی و فتوسنتزی برگ‌ها می‌باشند (۳۰) و (۳۱). تنش آبی می‌تواند سبب القاء واکنش در تمامی سطوح سازمانی گیاهان از قبیل سلولی، متابولیسمی و مولکولی شوند (۲۸). اثرات اولیه خشکی در درختان معمولاً کاهش هدایت روزنه‌ای، پتانسیل آبی، پتانسیل اسمزی، رشد برگ و فتوسنتز می‌باشد که منجر به کاهش از دست دهی آب می‌شود، هرچند این عمل سبب کاهش قدرت تولید در گیاه می‌گردد (۳۱). با کاهش محتوای آب برگ در اثر تنش خشکی، سلول‌ها چروک خورده و دیواره سلولی پایداری خود را از دست می‌دهد. در نتیجه سطح برگ کاهش می‌یابد و رشد گیاه کم می‌شود (۴۷).

بسته شدن روزنه‌ها احتمالاً مهمترین عامل کنترل متابولیسم کربن تحت تنش خشکی ملایم است (۱۰). کاهش CO<sub>2</sub> درون سلولی نتیجه کاهش بیش از حد اجزاء زنجیره انتقال الکترون می‌باشد که منجر به ایجاد گونه‌های اکسیژن واکنش گر (ROS) می‌شوند

امروزه کمبود آب یکی از محدودیت‌های توسعه کشاورزی در دنیا محسوب و سبب کاهش ۱۷ درصد تولیدات کشاورزی در سطح جهانی می‌شود. همچنین بالا رفتن دمای هوا باعث افزایش تبخیر و تعرق شده و نیاز آبی گیاهان را افزایش می‌دهد (۲). با توجه به اینکه ایران یکی از مناطق کم آب جهان به شمار می‌رود، جستجوی راهکارهایی جهت کاهش مصرف و حفظ منابع آبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. یکی از این راهکارها، استفاده از ارقام مقاوم و بکارگیری مکانیسم‌هایی است که بتوان مقاومت گیاهان را نسبت به کمبود آب در مناطق خشک و نیمه خشک افزایش داد (۱۳).

آزمایش‌های متعددی برای مقایسه تحمل نسبی ژنوتیپ‌های مختلف درختان به تنش خشکی انجام شده است و معیارهای

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش آموخته دکتری، استادیار و استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار گروه زراعت، دانشگاه فردوسی مشهد

\*- نویسنده مسئول: (Email: abedy@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.53495

مواجه می‌شوند که در نهایت می‌تواند به کاهش عملکرد و از بین رفتن بوته‌ها منجر گردد (۱۸). لذا تحقیق در مورد مقاومت ارقام مختلف انگور به تنش خشکی ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعه با هدف بررسی تاثیر تنش خشکی بر روی برخی از خصوصیات سه رقم انگور یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش به منظور بررسی تاثیر تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های سه رقم انگور یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در دانشگاه فردوسی مشهد و به صورت گلدانی در هوای آزاد در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد. در زمان اعمال تنش میانگین دما ۲۸/۶ درجه سانتیگراد و میانگین رطوبت ۲۱/۲ درصد بود. ابتدا نهال‌های یکساله رقم‌های انگور بیدانه سفید و عسکری در فروردین ماه سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ از نهالستان‌های معتبر مشهد و نهال‌های رقم یاقوتی از شهرستان زابل در استان سیستان و بلوچستان تهیه و به گلدان‌های پلاستیکی سیاه رنگ با حجم ۲۰ لیتر و با قطر دهانه ۳۳ سانتیمتر و ارتفاع ۳۶ سانتیمتر حاوی مخلوطی از ماسه، خاکبرگ و خاک باغچه به نسبت مساوی (۱:۱:۱) منتقل شدند. درصد رطوبت ظرفیت زراعی (FC) خاک گلدان‌ها ۲۵ درصد بود. نهال‌های تازه کاشته شده در گلدان‌ها تا ابتدای تیرماه به طور یکسان آبیاری شدند. تیمارهای آبیاری در این پژوهش در چهار سطح انجام گرفت که سه تیمار اول شامل تیمار شاهد (آبیاری با ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (آبیاری با ۶۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (آبیاری با ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بود که به روش وزنی و به مدت ۲ ماه (از ابتدای تیرماه تا پایان مرداد ماه) انجام گرفت و تیمار چهارم به این صورت انجام گرفت که پس از اعمال تیمار آبیاری با ۳۰ درصد ظرفیت زراعی از ابتدای شهریور به مدت دو هفته آبیاری مجدد انجام شد. با وزن کردن روزانه گلدان‌ها، وضعیت رطوبتی آنها مشخص و بدین ترتیب نقصان رطوبتی گلدان‌ها با اضافه نمودن آب به حد تنش مورد نظر جبران گردید.

پس از اعمال تیمارهای خشکی (پایان مرداد ماه) و آبیاری مجدد، ارتفاع بوته، قطر ساقه (بوسیله کولیس دیجیتالی)، تعداد برگ در گیاه، وزن تر و خشک برگ‌ها و وزن خشک ساقه اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌های موردنظر را به مدت ۷۲ ساعت در آن ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده و سپس توسط ترازوی حساس توزین گردید. برای اندازه‌گیری میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC)<sup>۲</sup>، ابتدا از گیاه، نمونه‌های برگی تهیه و از برگ‌ها ۵ قطعه به

(۳۲). در گیاهان، تجمع مواد اسمولیت (مانند اسید آمینه پرولین و قندهای محلول) باعث جلوگیری از فروپاشی غشاء سلولی و غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌گردد (۱۰ و ۲۵) و نیز با حذف گونه‌های فعال اکسیژن اضافی سبب احیاء تعادل اکسایش سلولی و یا با ایجاد تعادل اسمزی سبب حفظ فشار سلولی می‌شود. ظرفیت تجمع پرولین با تحمل به تنش‌های مختلف از جمله تنش خشکی، شوری بالا و فلزات سنگین همبستگی دارد. در سطح مولکولی، ژن‌های دخیل در سنتز نگهدارنده‌های اسمزی<sup>۱</sup> تحت تنش تحریک می‌شوند (۲۸).

علاوه بر صفات مورفولوژیکی که در سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی مورد توجه قرار می‌گیرند، صفات فیزیولوژیکی نیز اهمیت حیاتی در بقا و سازگاری گیاهان به تنش‌های محیطی دارند و از این رو توجه به شاخص‌های فیزیولوژیکی به منظور مطالعه میزان مقاومت به خشکی یکی از جنبه‌های مهم مقاومت به خشکی در گیاهان به حساب می‌آید. تحمل به خشکی یک صفت ساده از نظر کنترل ژنتیکی نبوده بلکه ترکیبی از صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی است که بطور مثال با صفات محتوی نسبی آب برگ، میزان نشت الکترولیت‌ها، میزان کلروفیل، پرولین، تنظیم اسمزی و تبادلات گازی در ارتباط است (۶). از دیگر صفات شاخص در تحمل به خشکی می‌توان به مواردی مانند ارتفاع بوته، قطر تنه، سطح برگ، وزن تر و خشک برگ (۲۷) اشاره کرد.

عکس العمل ارقام انگور نسبت به تنش خشکی متفاوت می‌باشد و به طور کلی کمبود آب موجب کاهش طول شاخه، ریشه و سطح برگ می‌گردد (۴۸). در ارقام مقاوم انگور تنظیم هدایت هیدرولیکی با کاهش سطح برگ یا تنظیم روزنه‌ای انجام می‌گیرد. برخی از نتایج بدست آمده از پژوهش‌های انجام شده در رابطه با پاسخ انگور به کمبود آب شامل کاهش در هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز (۱۹، ۲۷ و ۴۲)، کاهش گسترش برگ‌ها و طول شدن میانگره‌ها (۹)، کاهش عملکرد (۳۱) و محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت و تعداد برگ (۱۹) می‌باشد. براساس آزمایش انجام داده شده در دو رقم انگور خوشناو و رشه علاوه بر کاهش سرعت فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای در ضمن میزان کلروفیل در هر دو رقم مورد آزمایش کاهش نشان داده و میزان کاهش کلروفیل در رقم خوشناو بیشتر از رشه بوده است (۱۷). همچنین در بررسی دیگری بر روی سه رقم انگور، شاخص‌های رشدی، RWC و کلروفیل در این ارقام کاهش و مقدار قند و پرولین افزایش نشان داد (۲۳). کشت دیم انگور در برخی از استان‌های کشور رایج است و در این مناطق بوته‌های انگور در بخشی از رشد سالیانه خود یعنی تابستان که تبخیر و تعرق زیاد است، شدیداً تحت تاثیر تنش خشکی و کمبود آب قرار می‌گیرند و با مشکلاتی از جمله کوتاه شدن دوره رشد، کاهش گل‌انگیزی و پیری فیزیولوژیک

۱۰۰× جذب نمونه شاهد/جذب نمونه مورد ارزیابی-جذب نمونه شاهد) = درصد تخریب رادیکالهای فعال (معادله ۳)  
 برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ویژگی‌های مورد بررسی، از نرم افزار JMP سری ۸ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون توکی و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel سری ۲۰۱۳ استفاده شد.

## نتایج و بحث

بر اساس نتایج این پژوهش، اثر سال در هیچ کدام از صفات مورد مطالعه معنی‌دار نبود. تمامی صفات اندازه‌گیری شده در رقم‌ها و سطح‌های مختلف رطوبتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل رقم و سطح‌های مختلف رطوبتی نیز در صفات وزن تر برگ، شاخص کلروفیل و نشت الکترولیت در سطح احتمال پنج درصد و در سایر صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).  
 بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش، اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر تمامی شاخص‌های رشدی منفی بود که البته این تاثیر، بسته به سطح تنش و رقم متفاوت بود. با افزایش شدت تنش خشکی ارتفاع ساقه، تعداد برگ، قطر ساقه، وزن تر و خشک برگ و وزن خشک ساقه در هر سه رقم کاهش یافت. در تیمار آبیاری کامل بیشترین میزان افزایش ارتفاع مربوط به رقم‌های یاقوتی و بیدانه سفید (به ترتیب ۸۵/۲۸ و ۸۴/۴۵ سانتیمتر) بود. در تیمار تنش متوسط رقم یاقوتی دارای بیشترین (۳۶/۳۲ سانتیمتر) و رقم بیدانه سفید دارای کمترین افزایش ارتفاع (۱۶/۷۲ سانتیمتر) بودند. در تیمار تنش شدید نیز رقم یاقوتی دارای افزایش ارتفاع بیشتری (۹/۱۲ سانتیمتر) نسبت به دو رقم دیگر بود ولی این افزایش ارتفاع از نظر آماری معنی داری نبود. همچنین در تیمار آبیاری مجدد رقم یاقوتی و بیدانه سفید به ترتیب بیشترین (۳۱/۵ درصد) و کمترین (۱۸ درصد) افزایش ارتفاع را نسبت به تیمار تنش شدید داشتند (شکل ۱ الف).  
 بیشترین تعداد برگ در هر بوته در تیمارهای شاهد (۱۰۹/۱۲) و تنش متوسط (۴۵/۷۵) مربوط به رقم بیدانه سفید بود ولی در تیمار تنش شدید کمترین تعداد برگ (۲۹/۳۷) مربوط به این رقم بود و رقم یاقوتی بیشترین تعداد برگ (۳۵/۱۲) را داشت. در تیمار آبیاری مجدد رقم یاقوتی و بیدانه سفید به ترتیب بیشترین (۶/۴ درصد) و کمترین (۲/۵ درصد) افزایش تعداد برگ را نسبت به تیمار تنش شدید داشتند (جدول ۲).  
 در تیمار تنش متوسط تفاوت معنی داری از نظر قطر ساقه بین ارقام مشاهده نشد ولی در تیمارهای تنش شدید و آبیاری مجدد رقم عسکری دارای بیشترین و رقم بیدانه سفید دارای کمترین مقدار قطر ساقه بودند (جدول ۲).

مساحت تقریبی ۹-۱۰ میلی مترمربع تهیه و سریعاً وزن تازه آنها ( $W_F$ ) تعیین گردید. سپس تکه‌های برگ در پتری‌های درب دار داخل آب مقطر در شرایط آزمایشگاه و نور کم به مدت ۴ ساعت شناور شدند، پس از این مدت تکه‌های برگ از آب مقطر خارج و سطح آنها به آرامی بوسیله دستمال کاغذی خشک و سریعاً وزن آماس آنها ( $W_T$ ) تعیین شد. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در آون قرار داده شدند و وزن خشک آنها ( $W_D$ ) گرفته شد و سپس میزان محتوای آب نسبی برگ از رابطه زیر محاسبه شد (۱۶):

$$RWC (\%) = [(W_F - W_D) / (W_T - W_D)] \times 100 \quad (1)$$

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه SPAD (مدل 502-Minolta-Japan) صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها ۰/۱ گرم نمونه برگ به اندازه‌های یکسان تهیه گردیده و در ظروف حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده شد. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و پس از سرد شدن در دمای اتاق EC آنها با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی اندازه‌گیری شد ( $C_1$ ). سپس نمونه‌ها در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شده و بوسیله دستگاه هدایت سنج الکتریکی EC آن اندازه‌گیری شد ( $C_2$ ). سپس از طریق فرمول زیر درصد نشت الکترولیت‌ها بدست آمد (۴۱).

$$EL (\%) = (C_1 / C_2) \times 100 \quad (2)$$

به منظور اندازه‌گیری میزان قندهای محلول کل، به عصاره‌های حاصل از ۰/۵ گرم برگ به همراه ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۳ میلی لیتر معرف آنترون اضافه و پس از اعمال ۱۰ دقیقه دمای آب جوش، میزان جذب نور در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید (۲۱).  
 برای تعیین میزان پرولین، ۲ میلی لیتر از عصاره حاصل از ۰/۵ گرم برگ تازه و ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد با ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک خالص مخلوط گردیده و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار داده شد و پس از افزودن تولوئن میزان جذب نور فاز فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد (۵). مقادیر فنل کل در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیوکالتو اندازه‌گیری گردید (۳۳).

برای اندازه‌گیری ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال ۱۰۰ میلی گرم ماده برگی تازه جدا و عصاره‌گیری با اتانول ۹۶ درصد انجام شد. مقدار مناسبی از محلول شفاف بالای را با ۸۰۰ میکرولیتر از محلول نیم میلی مولار DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) مخلوط نموده و میزان جذب نور پس از آن که نمونه‌ها ۳۰ دقیقه تحت شرایط تاریکی نگهداری شدند در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (۱):

جدول ۱ - تجزیه واریانس برخی صفات اندازه گیری شده در سه رقم انگور مورد مطالعه تحت تاثیر تنش خشکی  
Table 1- ANOVA of different measured traits of three studied grapevine cultivars in response to drought stress.

| منبع تغییرات<br>S.O.V.    | درجه<br>آزادی<br>df | افزایش<br>ارتفاع<br>Increase<br>height | تعداد<br>برگ<br>Leaf<br>number | قطر ساقه<br>Stem<br>diameter | وزن تر<br>برگ<br>Leaf<br>fresh<br>weight | وزن خشک                          |                                      | شاخص<br>کلروفیل<br>chlorophyll<br>index | محتوای<br>نسبی<br>آب برگ<br>RWC | نشت<br>الکترولیت<br>Electrolyte<br>leakage | قندهای<br>محلول<br>Soluble<br>sugar | فعالیت آنتی<br>اکسیدانی<br>Antioxidant<br>activity | ترکیبات<br>فنلی<br>Phenolic<br>compound | پروлін<br>Proline  |
|---------------------------|---------------------|--|--------------------------------|------------------------------|--|----------------------------------|--------------------------------------|---|---------------------------------|--|-------------------------------------|--|---|--------------------|
|                           |                     |  |                                |                              |  | وزن خشک<br>Stem<br>dry<br>weight | وزن خشک<br>برگ<br>Leaf dry<br>weight |   |                                 |  |                                     |  |   |                    |
| سال<br>Year (Y)           | 1                   | 4.13 <sup>ns</sup>                     | 0.17 <sup>ns</sup>             | 1.51 <sup>ns</sup>           | 8.00 <sup>ns</sup>                       | 1.17 <sup>ns</sup>               | 0.62 <sup>ns</sup>                   | 7.37 <sup>ns</sup>                      | 1.28 <sup>ns</sup>              | 3.25 <sup>ns</sup>                         | 0.85 <sup>ns</sup>                  | 22.96 <sup>ns</sup>                                | 1.27 <sup>ns</sup>                      | 0.01 <sup>ns</sup> |
| بلوک (سال)<br>Block [Y]   | 6                   | 6.81                                   | 4.03                           | 0.28                         | 17.42                                    | 1.36                             | 0.40                                 | 11.49                                   | 1.62                            | 5.54                                       | 0.58                                | 20.77  | 0.99                                    | 0.02               |
| رقم<br>Cultivar (C)       | 2                   | **599.61                               | **1009                         | **5.25                       | **738.45                                 | **182.88                         | **82.82                              | **59.27                                 | **19.74                         | **114.35                                   | **23.77                             | **1251.31  | **4.27                                  | **11.01            |
| خشکی<br>Drought (D)       | 3                   | **27277.6                              | **15959                        | **28.15                      | **7697.35                                | **454.27                         | **573.21                             | **155.41                                | **136.9                         | **243.6                                    | **45.35                             | **885.72   | **4.23                                  | **176.79           |
| رقم × خشکی<br>C×D         | 6                   | **292.38                               | **1312                         | **2.06                       | *28.08                                   | **17.19                          | **6.88                               | *12.45                                  | **35.07                         | *6.58                                      | **6.00                              | **75.41  | **0.92                                  | **4.24             |
| سال × رقم<br>Y×C          | 2                   | 7.02 <sup>ns</sup>                     | 2.01 <sup>ns</sup>             | 0.10 <sup>ns</sup>           | 9.99 <sup>ns</sup>                       | 2.36 <sup>ns</sup>               | 0.19 <sup>ns</sup>                   | 2.85 <sup>ns</sup>                      | 0.12 <sup>ns</sup>              | 0.51 <sup>ns</sup>                         | 0.20 <sup>ns</sup>                  | 4.30 <sup>ns</sup>                                 | 0.30 <sup>ns</sup>                      | 0.19 <sup>ns</sup> |
| سال × خشکی<br>Y×D         | 3                   | 6.58 <sup>ns</sup>                     | 1.06 <sup>ns</sup>             | 0.03 <sup>ns</sup>           | 2.04 <sup>ns</sup>                       | 1.76 <sup>ns</sup>               | 2.54 <sup>ns</sup>                   | 6.36 <sup>ns</sup>                      | 0.32 <sup>ns</sup>              | 1.96 <sup>ns</sup>                         | 0.37 <sup>ns</sup>                  | 2.69 <sup>ns</sup>                                 | 0.05 <sup>ns</sup>                      | 0.03 <sup>ns</sup> |
| سال × رقم × خشکی<br>Y×C×D | 6                   | 3.25 <sup>ns</sup>                     | 1.86 <sup>ns</sup>             | 0.18 <sup>ns</sup>           | 3.14 <sup>ns</sup>                       | 1.67 <sup>ns</sup>               | 0.85 <sup>ns</sup>                   | 0.62 <sup>ns</sup>                      | 2.59 <sup>ns</sup>              | 1.92 <sup>ns</sup>                         | 0.07 <sup>ns</sup>                  | 2.65 <sup>ns</sup>                                 | 0.27 <sup>ns</sup>                      | 0.25 <sup>ns</sup> |
| خطا<br>Error              | 66                  | 5.44                                   | 7.01                           | 0.42                         | 14.13                                    | 0.99                             | 0.92                                 | 4.32                                    | 2.25                            | 3.02                                       | 0.88                                | 7.24   | 0.18                                    | 0.2                |

<sup>ns</sup>، \* و \*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد  
<sup>ns</sup>، \* and \*\* non-significant, significant at 5% and 1% level, respectively



رشد رویشی هم می‌کاهد (۴۷). نتایج مقایسه میانگین تاثیر سطح‌های مختلف تنش خشکی بر شاخص کلروفیل، حاکی از کاهش این شاخص با افزایش شدت تنش می‌باشد. در تیمار آبیاری کامل رقم‌های عسکری و بیدانه سفید دارای بیشترین و رقم یاقوتی دارای کمترین مقدار شاخص کلروفیل بودند. در سایر تیمارهای آبیاری رقم عسکری دارای بیشترین مقدار شاخص کلروفیل بود ولی تفاوت بین رقم‌ها از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۲). گونه‌های فعال اکسیژن که در زمان خشکی در گیاه تولید شده می‌توانند سبب تخریب سیستم فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل شوند (۴۵). کاهش سطوح کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌تواند به افزایش فعالیت آنزیم تخریب کننده کلروفیل (کلروفیلاز)، مربوط باشد (۲۴).

رقم یاقوتی در تمامی تیمارهای آبیاری دارای بیشترین مقدار وزن تر و خشک برگ و وزن خشک ساقه بود (در تیمار تنش متوسط تفاوت معنی داری در وزن خشک برگ مشاهده نشد). در تیمار تنش شدید رقم عسکری و بیدانه سفید دارای کمترین مقدار وزن تر و خشک برگ و رقم بیدانه سفید دارای کمترین وزن خشک ساقه بود (جدول ۲).

بر اساس گزارش محققان در انگور و سایر گیاهان، کاهش رطوبت در بسیاری از شاخص‌های رشدی تاثیر منفی دارد و در این پژوهش نیز نتیجه‌های مشابهی مشاهده شد (۲، ۱۱، ۳۹، ۴۰ و ۴۳). در شرایط کمبود آب، میزان جذب مواد غذایی کاهش یافته و ظرفیت فتوسنتز کل و رشد گیاه کاهش می‌یابد و آثار آن به صورت کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه بروز می‌کند (۷ و ۲۹). تنش خشکی نه تنها سطح برگ بلکه تعداد برگ‌ها را هم کاهش داده و در نهایت از

جدول ۲- اثر برهمکنش تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های رشدی، شاخص کلروفیل و نشت الکترولیت در سه رقم انگور مورد مطالعه (یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری)

Table 2 Interaction effect of drought stress on some growth characteristics, Electrolyte leakage and chlorophyll index of three studied grapevine cultivars (Yaghooti, Bidane sefid and Askari)

| رقم های انگور<br>Grape cultivars | تیمارهای آبیاری<br>Water treatment | تعداد برگ<br>Leaf number | قطر ساقه<br>Stem diameter (mm) | وزن تر برگ<br>Leaf fresh weight (g) | وزن خشک ساقه<br>Stem dry weight (g) | وزن خشک برگ<br>Leaf dry weight (g) | شاخص کلروفیل<br>chlorophyll index | نشت الکترولیت<br>Electrolyte leakage (%) |
|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|--|
| یاقوتی<br>Yaghooti               | % 100 FC                           | 91.75b†                  | 9.05bc                         | 55.85a                              | 18.39a                              | 16.5a                              | 33.09bcd                          | 18.10f                                   |
|                                  | % 60 FC                            | 41.12ef                  | 8.85bc                         | 26.29c                              | 11.00cd                             | 6.36c                              | 32.55bcd                          | 22.02cde                                 |
|                                  | % 30 FC                            | 35.12g                   | 7.29def                        | 18.17d                              | 8.41ef                              | 4.92c                              | 30.36de                           | 25.74ab                                  |
|                                  | آبیاری مجدد<br>Re-watering         | 37.37fg                  | 7.32def                        | 19.23d                              | 9.84de                              | 5.69c                              | 33.32bcd                          | 20.13ef                                  |
| بیدانه سفید<br>Bidane sefid      | % 100 FC                           | 109.12a                  | 10.36a                         | 49.96ab                             | 15.39b                              | 11.57b                             | 35.86ab                           | 19.68ef                                  |
|                                  | % 60 FC                            | 45.75d                   | 8.26cd                         | 19.69d                              | 8.02f                               | 5.65c                              | 33.53bcd                          | 26.49ab                                  |
|                                  | % 30 FC                            | 29.37i                   | 6.97f                          | 9.24e                               | 3.33h                               | 1.86d                              | 28.24e                            | 28.02a                                   |
|                                  | آبیاری مجدد<br>Re-watering         | 30.12hi                  | 7.07ef                         | 9.65e                               | 3.59h                               | 2.03d                              | 34.39bc                           | 23.91bcd                                 |
| عسکری<br>Askari                  | % 100 FC                           | 61.12c                   | 9.92ab                         | 44.86b                              | 12.56c                              | 12.8b                              | 38.46a                            | 18.21f                                   |
|                                  | % 60 FC                            | 42.62de                  | 8.96bc                         | 21.86cd                             | 6.85fg                              | 5.89c                              | 34.06bc                           | 20.96def                                 |
|                                  | % 30 FC                            | 33.5ghi                  | 8.15cde                        | 8.30e                               | 5.7g                                | 2.34d                              | 31.14cde                          | 24.99bc                                  |
|                                  | آبیاری مجدد<br>Re-watering         | 34.5gh                   | 8.35cd                         | 9.34e                               | 6.82fg                              | 3.1d                               | 36.14ab                           | 20.04ef                                  |

† میانگین های دارای حرف های مشابه در هر ستون از نظر آماری بر اساس آزمون توکی، در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیستند  
‡ Means with the same letters in each column are not significantly different by Tukey HSD test ( $p \leq 0.05$ )

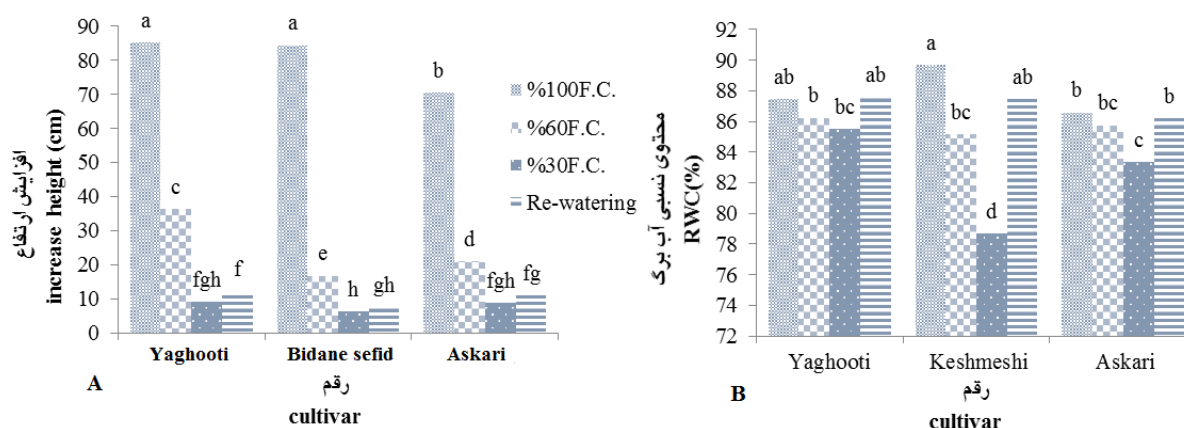
یاقوتی دارای بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ (۸۶/۳۳ درصد) بود ولی تفاوت بین ارقام از نظر آماری معنی دار نبود. در تیمار تنش شدید رقم یاقوتی دارای بیشترین (۸۵/۴۹ درصد) و رقم بیدانه سفید دارای کمترین مقدار محتوای نسبی آب برگ (۷۸/۶۷ درصد) بود

در بررسی محتوای نسبی آب برگ مشاهده شد که با افزایش شدت تنش خشکی مقدار این صفت کاهش می‌یابد. در تیمار آبیاری کامل رقم بیدانه سفید و یاقوتی دارای بیشترین مقدار محتوای نسبی آب برگ (۸۹/۷ و ۸۷/۴۸ درصد) بودند. در تیمار تنش متوسط رقم

می‌باشد. بر اساس نتایج گزارش شده توسط سایر محققان (۱۹، ۲۷، ۴۰ و ۵۰). محتوای نسبی آب برگ با کاهش آب قابل دسترس گیاه کاهش می‌یابد و بیشترین و کمترین مقدار محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در تیمارهای شاهد و تنش شدید مشاهده شد که با نتیجه‌های این پژوهش مشابهت دارد.

در تیمار آبیاری کامل تفاوت معنی داری بین ارقام از نظر درصد نشت الکترولیت مشاهده نشد ولی در سایر تیمارهای آبیاری رقم بیدانه سفید دارای بیشترین درصد نشت الکترولیت نسبت به دو رقم دیگر بود (جدول ۲). افزایش درصد نشت الکترولیت که در نتیجه افزایش تنش خشکی اتفاق می‌افتد، بوسیله سایر محققین نیز گزارش شده است (۱۹ و ۲۲). با کاهش محتوای نسبی آب در اثر تنش خشکی، برخی تغییرات مانند افزایش نفوذپذیری و کاهش خاصیت نفوذپذیری انتخابی در غشاء سلولی صورت می‌گیرد که باعث افزایش در نشت الکترولیت‌ها می‌شود (۲۲).

(شکل ۱ب). مقاومت گیاهان به خشکی به توانایی آنها در حفظ محتوای نسبی آب برگ بالا در برگها، تحت شرایط تنش ارتباط دارد (۱۵) و ارقام متحمل مقادیر محتوای نسبی آب برگ بالاتری را دارا هستند (۴۴). در شرایط تنش شدید خشکی، کاهش در محتوای نسبی آب برگ یک پاسخ معمول می‌باشد (۳۷) و ارقام مقاوم در شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ را بیشتر از بقیه ارقام حفظ می‌کنند و در این ارقام محتوای نسبی آب برگ بالا ممکن است به دلیل حفظ تورژسانس سلول باشد، در حالیکه ارقام حساس به خشکی به راحتی تورژسانس سلول‌های خود را از دست می‌دهند (۳۷). در این آزمایش رقم یاقوتی در تنش شدید نسبت به تیمار شاهد کمترین مقدار کاهش محتوای نسبی آب برگ (۲/۲۷ درصد) و رقم بیدانه سفید بیشترین مقدار کاهش محتوای نسبی آب برگ (۱۲/۳ درصد) را داشتند که این نتایج نشان دهنده این است که احتمالاً رقم یاقوتی نسبت به دو رقم دیگر دارای مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی



شکل ۱- اثر برهمکنش تنش خشکی بر الف) افزایش ارتفاع و ب) محتوای نسبی آب برگ در سه رقم انگور مورد مطالعه (یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری)

Figure 1- Interaction effect of drought stress on A) Increase height and B) RWC of three studied grapevine cultivars (Yaghooti, Bidane sefid and Askari)

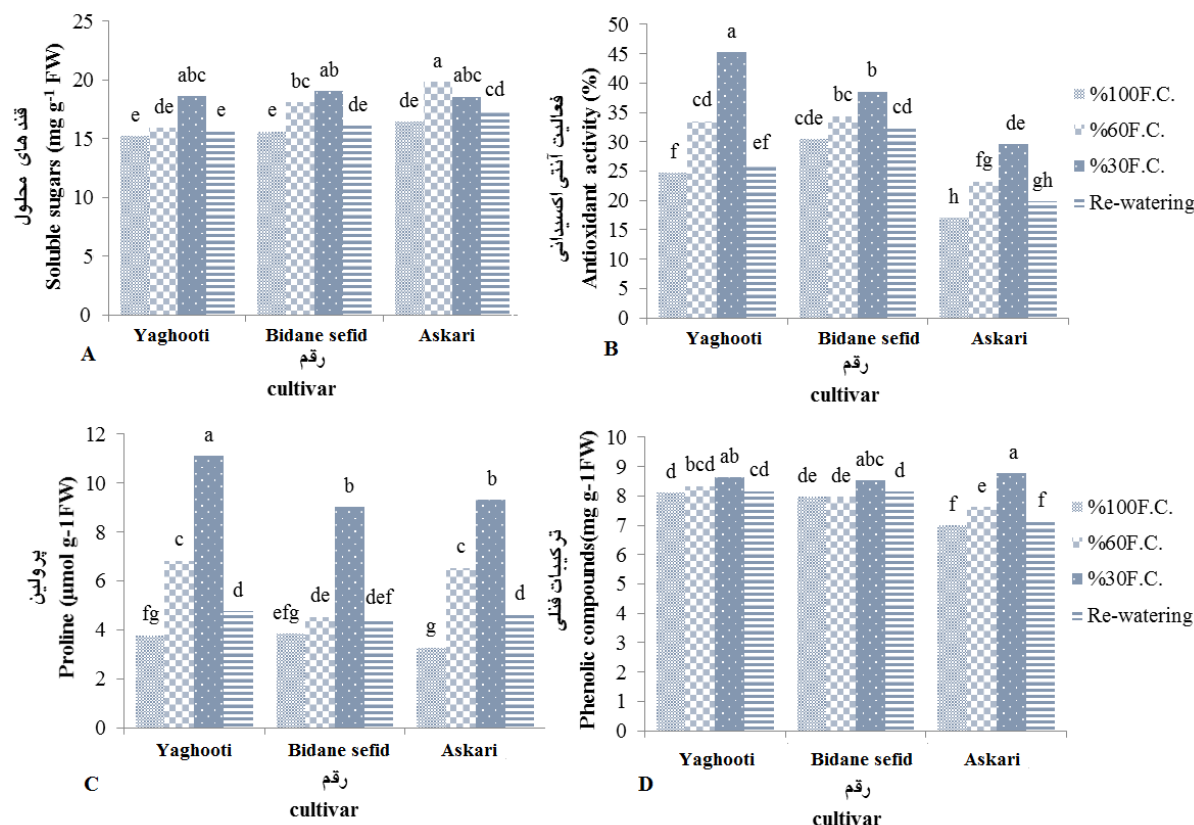
تورژسانس سلول‌ها و پایدار نمودن پروتئین و غشاء سلولی نقش عمده دارند (۳۶).

بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۵/۳ درصد) مربوط به رقم یاقوتی و در تیمار تنش شدید بود. در تیمار آبیاری کامل و بازیابی مجدد رقم بیدانه سفید (به ترتیب ۳۰/۵ و ۳۲/۳۳ درصد) و در تنش متوسط رقم‌های بیدانه سفید و یاقوتی (به ترتیب ۳۴/۳۶ و ۳۳/۵ درصد) دارای بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند و رقم عسکری در تمامی تیمارهای آبیاری دارای کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود. با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در همه ارقام افزایش یافت (شکل ۲ب) که با نتایج سایر پژوهش‌ها در

میزان قندهای محلول کل تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفته و با افزایش شدت تنش خشکی نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت و همچنین این افزایش بین ارقام مختلف، متفاوت بود. بیشترین مقدار قندهای محلول کل در رقم عسکری و در تیمار تنش متوسط مشاهده شد. در تیمار شاهد و تنش شدید مقدار قندهای محلول کل تفاوت معنی داری را بین رقم‌ها نشان نداد. در تیمار آبیاری مجدد رقم عسکری دارای بیشترین مقدار قندهای محلول کل بود (شکل ۲ الف). طبق نظر پژوهشگران، تنش خشکی باعث افزایش قندهای محلول در برگ می‌گردد (۲۳، ۱۷ و ۳۶). قندها از اسمولیت‌های سازگار به شمار می‌آیند که در تنظیم اسمزی، برای حفظ

آبیاری مجدد مقدار این ترکیبات کاهش یافت (شکل ۲پ). بیشترین مقدار ترکیبات فنلی در تیمار تنش متوسط و شدید به ترتیب مربوط به رقم یاقوتی و عسکری بود. همچنین بیشترین مقدار افزایش ترکیبات فنلی (۲۵/۲ درصد) در تیمار تنش شدید نسبت به تیمار شاهد مربوط به رقم عسکری بود. افزایش ترکیبات فنلی در اثر تنش خشکی در انگور در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است (۳۸). از جمله مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تنش خشکی، افزایش سطوح ترکیبات فنلی است، چرا که این گونه ترکیبات به عنوان پالاینده‌های گونه‌های اکسیژن فعال عمل کرده و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع از پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (۸ و ۳۴). علت بالا رفتن سطوح ترکیبات فنلی در اثر تنش خشکی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوسنتزی فنل‌ها (فنیل آلانین آمونیا لیز) می‌باشد (۴۸).

این زمینه مشابهت دارد (۲۰). شرایط تنش موجب تجمع گونه‌های اکسیژن فعال در گیاهان می‌شود که باعث صدمات اکسیداتیو به چربی‌ها و پروتئین‌ها شده و در نهایت منجر به مرگ گیاه می‌گردد (۳۵). در بسیاری از گیاهان، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی جهت کاهش آثار مخرب رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش، فعال می‌گردد در نتیجه با افزایش شدت تنش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان نیز افزایش می‌یابد. فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی با اندازه‌گیری میزان فعالیت مهار رادیکال DPPH انجام می‌گیرد (۲۶). به طور کلی ارقام متحمل دارای ظرفیت بهتری جهت حفاظت خود در برابر تنش‌های اکسیداتیو به واسطه نگهداری آنتی‌اکسیدان‌های بیشتر و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط تنش دارند (۳). نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشاهدات نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند. به طور کلی با افزایش تنش خشکی، ترکیبات فنلی افزایش یافتند و گیاهان در تیمار تنش شدید دارای بیشترین مقدار از این ترکیبات بودند و پس از



شکل ۲- اثر برهمکنش تنش خشکی بر الف) میزان قندهای محلول کل، ب) فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پ) ترکیبات فنلی و ت) پرولین در سه رقم انگور مورد مطالعه (یاقوتی، بیدانه سفید و عسکری)

Figure 2- Interaction effect of drought stress on A) Soluble sugar, B) Antioxidant activity, C) Phenolic compound and D) Proline of three studied grapevine cultivars (Yaghooti, Bidane sefid and Askari)

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش رقم یاقوتی در شرایط تنش خشکی کمترین کاهش را در افزایش ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه و محتوای نسبی آب برگ و همچنین بیشترین افزایش را در فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی و پرولین نسبت به تیمار آبیاری کامل داشت. می‌توان به این نتیجه رسید که در این پژوهش این رقم نسبت به دو رقم دیگر به خشکی متحمل تر است و با استفاده از مکانیسم‌هایی مانند حفظ محتوای نسبی آب برگ، افزایش پرولین، فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی با تنش خشکی مقابله می‌کند. همچنین پس از آبیاری مجدد نیز رقم یاقوتی توانست نسبت به دو رقم دیگر بازیابی بهتری به شرایط قبل از تنش داشته باشد و در صفات افزایش ارتفاع، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه و محتوای نسبی آب برگ وضعیت بهتری داشته باشد ولی رقم بیدانه سفید کمترین افزایش را در ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن خشک ساقه، ترکیبات فنولی و پرولین، بیشترین کاهش را در شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ و بیشترین افزایش را در نشت الکترولیت‌ها و قندهای محلول کل داشت. می‌توان نتیجه گرفت که این رقم از دو رقم دیگر نسبت به تنش خشکی حساس تر است و تنها از مکانیسم افزایش مقدار قندهای محلول کل برای مقابله با خشکی از دو رقم دیگر استفاده بیشتری کرده است. مطالعات بیشتر خصوصاً در شرایط مزرعه‌ای برای بدست آوردن نتایج کامل تر و تایید این نتایج لازم می‌باشد.

نتایج مربوط به پرولین نشان می‌دهد که بیشترین مقدار پرولین (۱۱/۱۲ میکرومول بر گرم وزن خشک) در رقم یاقوتی و تیمار تنش خشکی شدید مشاهده شد. در تیمار آبیاری کامل و بازیابی مجدد مقدار پرولین بین ارقام معنی دار نبود و در تنش متوسط رقم‌های یاقوتی و عسکری دارای بیشترین (به ترتیب ۶/۸۳ و ۶/۵۳ میکرومول بر گرم وزن خشک) و رقم بیدانه سفید دارای کمترین مقدار پرولین (۴/۵۴ میکرومول بر گرم وزن خشک) بود (شکل ۲). با افزایش تنش خشکی میزان پرولین در ارقام مورد بررسی افزایش و پس از آبیاری مجدد مقدار پرولین کاهش یافت که با نتایجی که توسط سایر محققین گزارش شده (۱۲، ۱۴ و ۴۶) مطابقت دارد. افزایش میزان پرولین همراه با افزایش شدت تنش خشکی به گیاهان برای حفظ محتوای آب بافت‌ها کمک و از افزایش صدمات خشکی جلوگیری می‌کند (۴ و ۲۸). پرولین در حفظ فشار اسمزی نقش عمده‌ای دارد و با حذف رادیکال‌های آزاد، مانع آسیب رسیدن به غشاء سلولی می‌شود (۲۸).

نتایج این تحقیق نشان داد که ارقام مختلف انگور به تنش خشکی عکس العمل متفاوتی نشان می‌دهند و تنش خشکی باعث تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در انگور می‌شود که شامل کاهش در ارتفاع و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن تر و خشک برگ، وزن خشک ساقه، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ و افزایش در نشت الکترولیت‌ها، میزان قندهای محلول کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی و میزان پرولین می‌شود که نشان دهنده یک مکانیسم محافظتی بر علیه خسارت‌های اکسیداتیو بر ساختار سلول‌ها می‌باشد.

## منابع

1. Abe N., Murata T., and Hirota A. 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and dimethyl trichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62: 661-662.
2. Ashraf M., Athar H.R., Harris P.J.C., and Kwon T.R. 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, 97: 45-110.
3. Bandoğlu E., Eyidoğan F., Yücel M., and Öktem H.A. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42: 69-77.
4. Bandurska H., Plachta M., and Woszczyk M. 2009. Seasonal patterns of free proline and carbohydrate levels in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) and ivy (*Hedera helix*) leaves and resistance to freezing and water deficit. *Dendrobiology*, 62:3-9.
5. Bates L.S., Waldran R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. *Plant Soil*, 39: 205-208.
6. Blum A. 1988. Drought resistance, In: A. Blum (ed), *Plant breeding for stress environments*, CRC. Florida, pp: 43-69.
7. Bota J., Stasyk O., Flexas J., and Medrano H. 2004. Effect of water stress on partitioning of <sup>14</sup>C labelled photosynthates in *Vitis vinifera*. *Plant Biology*, 31(7): 697-708.
8. Chang W.C., Kim S.C., Hwang S.S., Choi B.K., and Kim S.K. 2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Science*, 163: 1161-1168.
9. Chaves M.M., and Oliveira M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 55: 2365-2384.
10. Chaves M.M., Flexas J., and Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation

- mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103: 551–560.
11. Chaves M.M., Zarrouk O., Francisco R., Costa J.M., and Lopes C.M. 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105(5): 661-676.
  12. Claussen W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science*, 168: 241–248.
  13. Dichio B., Romano M., Nuzzu V., and Xiloyannis C. 2002. Soil water availability and relationship between canopy and roots in young olive trees cv. Coratana. *Acta Horticulturae*, 586: 419–422.
  14. Ez-zohra I.F., Said Q., Mohamed F., and Tayeb K. 2014. Biochemical Changes in Grapevines Roots in Responses to Osmotic Stress. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(7): 1-5.
  15. Faraloni C., Cutino I., Petrucelli R., Leva A.R., Lazzeri S., and Torzillo G. 2011. Chlorophyll Fluorescence Technique as a Rapid Tool for In Vitro Screening of Olive Cultivars (*Olea europaea* L.) Tolerant to Drought Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 73:49-56.
  16. Filella I., Llusia J., Pin J.O., and Pen J.U. 1998. Leaf gas exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and high temperature conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 39: 213–220.
  17. Ghaderi N., Siosemardeh A., and Shahoei S. 2006. The effect of water stress on some physiological characteristics in Rashe and Khoshnove grape cultivars. *Acta Horticulturae*, 754: 317-322.
  18. Ghaderi N., Talaei A., Ebadi A., and Lesani, H. 2009. Effect of water stress on some Physiological characters of five grapevine cultivars and evaluation of genetic diversity of them in Kurdistan province. Ph.D. Thesis. Faculty of Horticulture. University of Tehran, Iran (In Farsi).
  19. Ghaderi N., Talaie A.R., Ebadi A., and Lessani H. 2011. The Physiological response of three Iranian grape cultivars to progressive drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13: 601-610.
  20. Habibi D., Ardakani M.R., Boojar M.M., Taleghani D.E., and Mahmoodi A. 2004. Antioxidative in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress. 26 sep to 10 Oct. Australia.
  21. Hedge J.E.Z., and Hofreiter B.T. 1962. Carbohydrate Chemistry. PP. 17-22. In:R.L. Whistler and B. Miller (Eds.), Academic Press.
  22. Hura T., Hura K., Grzesiak M., and Rezepka A. 2007. Effect of Long-term Drought Stress on Leaf Gas Exchange and Fluorescence Parameters in C3 and C4 Plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29: 103- 113.
  23. Jalili marandi R., Hasaani A., Dolati bane H., Azizi H., and Haji taghilo R. 2011. Different Levels of Soil Moisture on the Morphological and Physiological Characteristics of Three Grape Cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Iranian journal of horticultural science*, 42(1):31-40 (in Persian).
  24. Jiang Y., and Huang N. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41: 436-442.
  25. Jimenez S., Dridi J., Gutiérrez D., Moret D., Irigoyen J.J., Moreno M.A., and Gogorcena Y. 2013. Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, 33: 1061–1075.
  26. Kang H.M., and Saltveit M.E. 2002. Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. *Plant Cell Environment*, 25: 1233-1238.
  27. Koundouras S., Tsialtas IT., Zioziou E., and Nikolaou N. 2008. Rootstock effect on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Cabernet–Sauvignon) under contrasting water status, Leaf physiological and structural responses. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 128: 86-96.
  28. Krasensky J., and Jonak C. 2012. Drought, salt, and temperature stress induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63:1593–1608.
  29. Lebon E., Pellegrino A., and Louarn G. 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera* L.) growing in drying soil. *Annals of Botany*, 98(1): 175–185.
  30. Liu B.H., Cheng L., Liang D., Zou Y.J., and Ma F.W. 2012. Growth, gas exchange, water-use efficiency, and carbon isotope composition of ‘Gale Gala’ apple trees grafted onto 9 wild Chinese rootstocks in response to drought stress. *Photosynthetica*, 50: 401–410.
  31. Lovisolio C., Perrone I., Carra A., Ferrandino A., Flexas J., Medrano H., and Schubert A. 2010. Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level: A physiological and molecular update. *Functional Plant Biology*, 37: 98–116.
  32. Mahajan S., and Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139–158.
  33. Mc Donald S., Prenzler P.D., Autolovich M., and Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73: 73- 84.
  34. Mohamed A.A., and Aly A.A. 2008. Alternations of some secondary metabolites and enzymes activity by using exogenous antioxidant compound in onion plants grown under seawater salt stress. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 3: 139-146.
  35. Molassiotis A., Sotiropoulos T., Tanou G., Diamantidis G., and Therios I. 2006. Boron-induced oxidative damage

- and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM9 (*Malus domestica* Borkh). *Environmental and Experimental Botany*, 56: 54–62.
36. Patakas A. 2000. Changes in the solutes contributing to osmotic potential during leaf ontogeny in grapevine leaves. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3): 223-226.
  37. -Pérez-Pérez J.G., Syvertsen J.P., Botia P., and García-Sánchez F. 2007. Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. *Annals of Botany*, 100(2): 335–345.
  38. Peterlunger E., Siviloti P., Celoti E., and Zironi R. 2000. Water stress and polyphenolic quality in red grapes. 6th International symposium on grapevine physiology and biotechnology, Heraklion, Greece.
  39. Ramteke S.D., and Karibasappa G.S. 2005. Screening of grape (*Vitis vinifera*) genotypes for drought tolerance. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 75: 355-357.
  40. Rayees A.W., Sheema S., Dar N.A., Angchuk S., and Parray G.A. 2013. Irrigation regimes effecting drought tolerance of grape rootstocks under cold arid conditions. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 12(2): 113-117.
  41. Sairam R.K., Chandrasekhar V., and Srivastava G.C. 2001. Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologia Plantarum*, 44 (1): 89-94.
  42. Santesteban L.G., Miranda C., and Royo J.B. 2009. Effect of water deficit and rewatering on leaf gas exchange and transpiration decline of excised leaves of four grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 121: 434–439.
  43. Satisha J., Prakash G.S., and Venugopalan R. 2006. Statistical modeling of the effect of physiobiochemical parameters on water use efficiency of grape varieties, rootstocks and their stionic combinations under moisture stress conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30: 261-271.
  44. Shamsi K., 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 8 (3): 1051- 1060.
  45. Smirnof N. 1993. The role of active oxygen in the response to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27–58.
  46. Sun, J., Gu J., Zeng J., Han Sh., Song A, Chen F., Fang W., Jiang J., and Chen S. 2013. Changes in leaf morphology, antioxidant activity and photosynthesis capacity in two different drought-tolerant cultivars of chrysanthemum during and after water stress. *Scientia Horticulturae*, 161: 249–258.
  47. Taiz L., and Zeiger E., 2006. *Plant Physiology* (4<sup>th</sup> ed.). Publishers sunderland, Massachusetts, 738p.
  48. Tian X., and Lei Y. 2006. Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*. 50 (4):775-778.
  49. Tooumi I., M’Sehli W., Bourgou S., Jallouli N., Bensalem-Fnayou A., Ghorbel A., and Mliki A. 2007. Response of ungrafted and grafted grapevine cultivars and rootstocks (*Vitis* sp.) to water stress. *Journal international des sciences de la vigne et du vin*, 41(2): 85-93.
  50. Zokae-Khosroshahi M., Esna- Ashari M., Ershadi A., and Imani A. 2014. Morphological changes in response to drought stress in cultivated and wild almond species. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(1): 79-92.



## Effects of Drought Stress on some Morphological and Physiological Properties of Three Grapevine Cultivars (*Vitisvinifera* L.)

M. Aran<sup>1</sup>- B. Abedi<sup>2\*</sup>- A. Tehranifar<sup>3</sup>- M. Parsa<sup>4</sup>

Received: 01-02-2016

Accepted: 27-07-2016

**Introduction:** Most plants have developed morphological and physiological mechanisms which allow them to cope with drought stress. Almost all the studies conducted on grapevines (*Vitisvinifera* L.) responses to drought conditions have focused on physiological responses such as stomatal reactions, photosynthesis and osmotic adjustment, and biochemical responses like carbohydrates and proline. According to these studies, physiological and biochemical responses of grapevines to water stress are quite variable. This variability could be related to cultivar, time of the year, previous water stress level, intensity of stress, and environmental conditions. Osmotic adjustment in terms of compatible solutes accumulation has been considered as an important physiological adaptation for plant to resist drought, which facilitates the extraction of water from dry soils and maintenance of cell turgor, gas exchange and growth in very dry environments. Acting as compatible solutes as well as antioxidants, a significant rise in proline amount was observed in grapevine leaves under water stress conditions, suggesting that this amino acid has a protective role against the formation of excessive reactive oxygen species (ROS). Plants, in order to overcome oxidative stress, have developed enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense mechanisms against scavenger ROS.

**Materials and Methods:** This research was conducted to assess the effect of different levels of irrigation on some characteristics of three cultivars of grapevine (Yaghooti, Bidanesehid and Askari), as a factorial based on a randomized complete block design in two years with four replications. The experiment started in June 21, 2014 and 2015. Water treatments were applied in four levels including: control plant (100% FC), moderate stress (60% FC), severe stress (30% FC) and rewatering treatment after severe stress treatment. Increase height, leaf number, stem diameter, leaf fresh and dry weight, stem dry weight, chlorophyll index, RWC, electrolyte leakage, soluble sugar, antioxidant activity, phenolic compound and proline were measured at the end of the experiment. JMP8 software was used to test the significant differences among the treatments and the interactions. When there were significant differences, means were separated by Tukey HSD test at the probability level  $p < 0.05$ .

**Results and Discussion:** Results showed that drought stress had significant effects on most traits at statistical levels. The effect of year on measured traits was not significant differences. The results demonstrate that the three investigated grapevine cultivars showed a clear difference in their response to water stress. Increase of height, leaf number, stem diameter, leaf fresh and dry weight, stem dry weight, chlorophyll index and RWC decreased as soil water content reduced and increased again after rewatering. The greatest increase height (9.12 cm), leaf number (35.12), leaf and stem dry weight (4.92 and 8.41 g respectively) in severe stress was in Yaghooti cultivars. Drought stress induced a significant decrease in leaf relative water content (RWC) of all three cultivars during the drought period. The RWC of Yaghooti (85.49%) was significantly more than that of Askari and Bidanesehid at severe stress. Bidanesehid demonstrate a higher decrease of RWC (12.3%) compared to control. Resistance of plant to drought is related to its ability to maintain high RWC in leaves under stress. Water stress treatments resulted in lower chlorophyll index in all three grapevine cultivars, so that a significant reduction in this variable was observed in stressed grapevine compared to the control. Electrolyte leakage, soluble sugar, antioxidant activity, phenolic compound and proline increased in all the cultivars as drought stress levels increased. Significant differences were observed among cultivars in terms of electrolyte leakage. Water stress treatments caused an increase in electrolyte leakage. Bidanesehid showed greatest electrolyte leakage than the other cultivars in all treatment. Under water deficit, cell membranes undergo some changes such as an increase in permeability and a decrease in selectivity, which can be viewed through the increase in electrolyte leakage. In moderate stress treatment, the highest amount of soluble sugars accumulation was recorded in Askari

1, 2 and 3- Ph.D, Assistant Professor and Professor, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Associate Professor, Department of Agronomy, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(\*-Corresponding Author Email: abedy@um.ac.ir)

cultivar but in severe stress treatment, no significant differences were observed among the cultivars. Significant differences were found in the antioxidant activity and proline content among cultivars and watering regimes. Under the severe stress conditions, the highest antioxidant activity (45.3%) and proline accumulation (11.12  $\mu\text{mol g}^{-1}$  FW) was registered in the Yaghooti cultivar, and no significant differences existed among two other cultivars. Plants accumulate compatible solutes, such as soluble sugars and proline, in response to stress to facilitate water uptake.

**Conclusion:** Of all the cultivars, Yaghooti had the lowest decrease in growth characteristics and RWC and greatest increase in antioxidant activity and proline. In the present study, based on the responses of cultivars to different levels of drought stress, it can be concluded that Yaghooti seems to be a more resistant cultivar to water stress compared to Askari and Bidanese fid cultivars. Based on the results, it can be said that Bidanese fid cultivar has the lowest resistant cultivar to water stress compared to Askari and Yaghooti cultivars. Further research especially under field conditions is needed to support this statement.

**Keyword:** Growth characteristics, Leaf relative water content, Proline, Soluble sugar



## تاثیر لیگنوسولفونات بر ریشه‌زایی درون شیشه‌ای گردو

مریم افلاکی جلالی - عبدالله حاتم زاده<sup>۲\*</sup> - حسن بهرامی سیرمندی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۱

### چکیده

ریزازدیادی گردو برای تکثیر انبوه در مدت زمان کم کاربرد دارد. با این حال سخت ریشه‌زایی یکی از عمده‌ترین مشکلات برای تکثیر رویشی گردو به روش ریزازدیادی است. در این مطالعه تاثیر لیگنوسولفونات<sup>۴</sup> به منظور بهبود ریشه‌زایی گردو در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا ریزنمونه‌ها روی محیط کشت درایور-کونیک<sup>۵</sup> استقرار یافتند. به منظور القای ریشه در ریزنمونه‌ها از دو آزمایش مختلف استفاده شد. در آزمایش اول ریزنمونه‌ها ابتدا به محیط القاء ریشه‌دهی حاوی چهار غلظت ایندول بوتیریک اسید (۳، ۵، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند سپس هر یک از تیمارها در تاریکی به مدت ۳، ۵ و ۷ روز قرار داده شدند. تیمارهای مربوط به غلظت‌های ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید ۷ روز تاریکی بالاترین درصد ریشه‌زایی را داشتند. در آزمایش بعدی از ترکیب سه سطح لیگنوسولفونات (۱، ۲ و ۳ گرم در لیتر) و دو غلظت ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید استفاده شد. هر یک از تیمارها در تاریکی به مدت ۷ روز قرار داده شدند. پس از القای ریشه، ریزشاخه‌ها به محیط نمو ریشه منتقل شدند که شامل یک چهارم غلظت محیط درایور-کونیک و ورمی‌کولیت بود. با افزایش میزان لیگنوسولفونات میزان ریشه‌زایی کاهش می‌یابد ولی با این حال بالاترین میزان ریشه‌زایی در کل تیمارهای بررسی شده در تیمار ۱ گرم در لیتر لیگنوسولفونات به دست آمد. این مطالعه اولین گزارش از ریشه‌زایی یک رقم گردو به نام هارتلی<sup>۶</sup> با استفاده از سینترژیست لیگنوسولفونات می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ایندول بوتیریک اسید، ریشه‌زایی، سینترژیست، کشت بافت، گردو

### مقدمه

مناطق معتدل به‌خوبی رشد می‌کند و آب و هوای خیلی سرد و خشک را نمی‌پسندد (۲۱).

گردو با وجود آنکه بومی ایران است و کاشت، داشت، برداشت و مراحل پس از برداشت آن بسیار مشابه پسته است، نقشی در ارزآوری کشور ندارد. مهم‌ترین علت این موضوع این است که تکثیر درخت گردو در کشور ما تاکنون به‌طریق جنسی (به‌وسیله بذر) انجام شده و این سبب شده است که تنوع وسیعی در خصوصیات محصول و درختان گردو به‌وجود آید (۱). وجود چنین تنوع ژنتیکی اگرچه از نظر بهنژدای بسیار باارزش است ولی باتوجه به اهمیت یکنواختی محصول برای صادر کردن میوه‌ها به بازار جهانی، سامان بخشیدن به تولید و صادرات این محصول تنها از طریق شناسایی ژنوتیپ‌های برتر کشور و تکثیر آن‌ها به‌طریق رویشی به‌منظور احداث باغ‌های یکنواخت از ارقام مشخص میسر می‌شود. مرسوم‌ترین روشی که در دنیا به‌طور وسیعی برای تکثیر درخت گردو مورد استفاده قرار می‌گیرد، روش پیوند زدن است. با این وجود، گیرایی پیوند گردو نسبت به سایر درختان میوه کم است (۱).

تکنیکی که امروزه برای تکثیر انبوه درختان گردو به‌کار می‌رود، استفاده از فنون کشت‌بافت است. کشت‌بافت گردو در سال‌های اخیر

گردوی معمولی (*Juglans regia* L.) گیاهی از خانواده *Juglandaceae* می‌باشد که دارای هفت جنس و حدود ۶۰ گونه درخت خزان‌پذیر است. جنس *Juglans* دارای ۲۱ گونه است که همگی دارای میوه خوراکی می‌باشند (۲۱). بهترین گونه این جنس *J. regia* (گردوی ایرانی) می‌باشد. گیاهان این خانواده به‌صورت درختی، خزان‌دار، یک‌پایه، دارای برگ‌های مرکب شانه‌ای با برگچه‌های وسیع و پوشیده از کرک‌های منشعب می‌باشد. گردو در

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

\*- نویسنده مسئول: (Email: hatamzadeh@guilan.ac.ir)

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته تولیدات گیاهی، گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

4- Lignosulfonate

5- (Driver- Kuniyuki) DKW

6- Hartley

محصول جانبی صنایع کاغذ است. نشان داده شده که با افزودن لیگنوسولفونات خام حاصل از صنایع کاغذ به محیط کشت هم رشد رویشی و هم رشد زایشی در چندین گیاه (درخت راج، صنوبر، جنسینگ) افزایش یافته است (۱۲). هم چنین لیگنوسولفونات به میزان زیادی نمو ریشه را تحت تأثیر قرار می دهد و به نظر می رسد به عنوان محافظ اکسین در مقابل اکسیدازها عمل می کند. یک فرضیه محتمل این است که لیگنوسولفونات ممکن است عمل اکسین طبیعی یا سنتزی را با افزودن به حساسیت اندام نسبت به اکسین افزایش دهد (۳۳). این گروه از دانشمندان فرض کردند که لیگنوسولفوناتها مانند محصولات حاصل از تجزیه دیواره سلولی، به عنوان محرک عمل می کنند. این چنین فرضیاتی باید با مولکول کوچک استخراج شده و خالص سازی شده از لیگنوسولفونات خام تست شوند. و در این آزمایشها لازم است فرضیه تلی شوا و همکاران (۳۰) بررسی شود. این فرضیه بیان می کند لیگنوسولفوناتها به میزان زیادی توسط تأمین سیلیکون، در رشد و نمو گیاه شرکت دارند. به علت توانایی بالای تشکیل کمپلکس توسط لیگنوسولفونات، ممکن است طول دوره فعالیت سیلیکون را افزایش دهند. باتوجه به یافته های یاماشیتا (۳۴) یک فعالیت محتمل برای لیگنوسولفونات ممکن است آسان تر کردن انتقال اسکلت کربن/ انرژی یا ترکیبات ماکرو مواد غذایی به داخل سلول های گیاهی یا آسان تر کردن انتقال مواد از طریق تغییر در ساختار خاک باشد. امروزه اثر مفید لیگنوسولفوناتها بر رشد و نمو گیاهان شناخته شده و به عنوان ماده موثر می توانند به محیط کشت اضافه شوند.

بر این اساس در این بررسی برای اولین بار اثر این سینترژیست اکسین بر بهبود ریشه زایی ریزنمونه های رقم هارتلی گردوی ایرانی در شرایط درون شیشه ای بررسی می شود.

## مواد و روش ها

### انتخاب ریزنمونه و ضد عفونی

در این آزمایش از رقم هارتلی استفاده شد. ریزنمونه ها از کلکسیون درختان مادری موسسه ثبت گواهی و نهال بذر وزارت جهاد کشاورزی در کرج تهیه شدند. در اواخر فروردین ماه ساقه های ۲۰ تا ۳۰ سانتی متری را از درختان مادری انتخاب و سپس آن ها را به قطعات گره ای ۳ تا ۵ سانتی متری تقسیم کردیم. قطعات جدا شده به مدت ۱ ساعت در زیر شیر آب شستشو شدند و بعد از آن قطعات ریزنمونه را به مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در وایتکس ۱۰ درصد قرار داده شدند. پس از ضد عفونی سطحی در زیر هود لامینار در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان هر قطعه سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده شده و در نهایت وارد محیط کشت پایه شدند.

به طور چشمگیری پیشرفت کرده است (۲۱). مشخص شده است که گیاهان تولید شده در شرایط در شیشه از طریق کشت قطعات ساقه ای در مقایسه با گیاهانی که از طریق تکنیک های سنتی پیوند تولید شده اند زودتر تولید میوه می کنند، علاوه بر این سیستم ریشه زایی قویتر و ناسازگاری بین پایه و پیوندک را نشان نمی دهند (۱۴ و ۲۰). با این حال سخت ریشه زابودن گردو یکی از عمده ترین مشکلات برای تکثیر رویشی گردو به روش ریزازدیادی است (۶). محققان مختلفی تکنیک های کشت بافت برای تکثیر گردوی ایرانی را مطالعه کردند. اولین تلاش ها برای تکثیر گردو با استفاده از محیط کشتی انجام شد که برای گیاهان چوبی دیگر مناسب است. در ایور-کونیک (۸) با استفاده از محیط کشت Cheng (۴) Murashige and Skoog، (MS) (۲۳) B5 (۱۰) و محیط کشت گیاهان چوبی (WPM) (۱۹) دریافتن که محیط کشت به طور تدریجی تخریب می شود. برای حل این مشکل، آنها محیط کشت جدیدی به نام DKW ساختند (۲۱) که به طور ویژه برای رشد هیبریدهای پارادوکس بهینه سازی شد. با اینکه این محیط کشت برای هیبریدهای پارادوکس تهیه شد ولی ثابت شده که برای واریته های مختلف گردو مناسب است (۸). اگرچه به طور معمول آگار به عنوان عامل جامد کننده برای بیشتر محیط های کشت به کار برده می شود، ژلرایت به عنوان عامل جامد کننده برای محیط کشت DKW مورد استفاده قرار گرفت. لسلی و مک گراناها (۱۸) گزارش دادند که استفاده از آگار با محیط DKW اثر مخربی بر روی گردو دارد. بارباس و همکاران (۲) گزارش کردند که عامل ژله ای کننده بر روی رشد ساقه های گردو در شرایط درون شیشه ای اثر دارد. ژلرایت افزایش طول ساقه و تولید جوانه را القا می کند در حالیکه آگار رشد را مهار کرده و منجر به ایجاد برگ های کاملاً پهن می شود ولی تشکیل برگ های جدید را محدود می کند. بر روی محیط کشت حاوی ژلرایت، برگ ها کوچک تر و روشن تر بودند و برگ های جدید به طور مرتب تشکیل شدند (۲). رویلا و همکاران (۲۶) گزارش کردند که بهترین ترکیب از تنظیم کننده های رشد برای ریزازدیادی *Juglans regia* L. ۶- بنزیل آمینو پورین<sup>۱</sup> با غلظت ۱ گرم در لیتر و ایندول ۳- بوتیریک اسید<sup>۲</sup> با غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر می باشد. غلظت های بالاتر ۶- بنزیل آمینو پورین تغییرات مورفولوژیکی ساقه ها را به وجود می آورد و در نهایت این تغییرات منجر به شیشه ای شدن می شود.

حفاظت اکسین در برابر سیستم اکسین- اکسیداز می تواند به ریشه زایی کمک بزرگی بکند (۶). از جمله ترکیباتی که می توانند نقش سینترژیستی (هم افزایی) با اکسین داشته باشند احتمالاً توانایی حفاظت اکسین در برابر آنزیمها را خواهند داشت (۲۵). لیگنوسولفونات

ورمی کولیت بود. این ریزش‌شاخه‌ها به مدت ۲۱ روز در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی در اتاقک کشت قرار گرفتند.

در روز بیست و یکم طول ریشه با دقت اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری طول متوسط ریشه پس از اندازه‌گیری طول ریشه‌های تولیدی در ریز ساقه‌ها، نتیجه به تعداد ریشه‌ها تقسیم و میانگین آن‌ها بر حسب سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت.

### آنالیز داده‌ها

تجزیه داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با ۲ تکرار انجام شد. برای آزمایش اول، فاکتورها شامل غلظت‌های مختلف ایندول بوتیریک اسید و زمان‌های تاریکی و برای آزمایش دوم فاکتورها شامل غلظت‌های لیگنوسولفونات و ایندول بوتیریک اسید بودند. در هر تکرار ۱۰ شاخه در شیشه‌های کشت با حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر که حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت بودند، قرار داده شد. تجزیه واریانس به روش (GLM) General Linear Model) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مصرف ایندول بوتیریک اسید، دوره تاریکی و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری برای دو صفت درصد ریشه‌زایی و طول ریشه در هر دو رقم نشان داد (جدول تجزیه واریانس ذکر نشده است) با توجه به معنی‌دار شدن اثر متقابل دو فاکتور، مقایسه میانگین‌ها در حالت ترکیب دو فاکتور بررسی شد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین درصد ریشه‌زایی در ترکیب‌های تیماری ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی به دست آمد که به ترتیب برای رقم هارتلی  $48/8$  درصد و  $50/5$  درصد بود (شکل ۱).

با افزایش غلظت ایندول بوتیریک اسید و طول دوره القاء، ریشه‌زایی افزایش یافت. با این حال ریشه‌زایی ریزساقه‌ها تا یک غلظت معین افزایش و بعد از آن شروع به کاهش می‌کند (جدول ۱).

بیشترین درصد ریشه‌زایی مربوط به تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی بود، که به ترتیب  $48/8\%$  و  $50/5\%$  بود (شکل ۲). برای صفت طول ریشه نیز بیشترین طول ریشه در تیمارهای ۵ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر غلظت ایندول بوتیریک اسید و دوره تاریکی ۷ روز بدست آمد که به ترتیب برای رقم هارتلی  $12/04$  سانتی‌متر و  $11/18$  سانتی‌متر بود که با نتایج صفت قبلی مطابقت داشت (جدول ۱).

در تمامی آزمایش‌ها برای تهیه ریزنمونه، شاخه‌ها از ۲ سانتی‌متری بالای ریزنمونه‌های رقم هارتلی همراه با ۴ یا ۵ برگ بالایی قطع شدند تا به این ترتیب ریزنمونه‌هایی یکسان به دست آید. ریزنمونه‌های مورد آزمایش تقریباً اندازه یکسانی حدود  $4 \pm 0/2$  سانتی‌متری داشتند.

### مرحله استقرار

#### محیط کشت افزونگری شاخساره‌ها

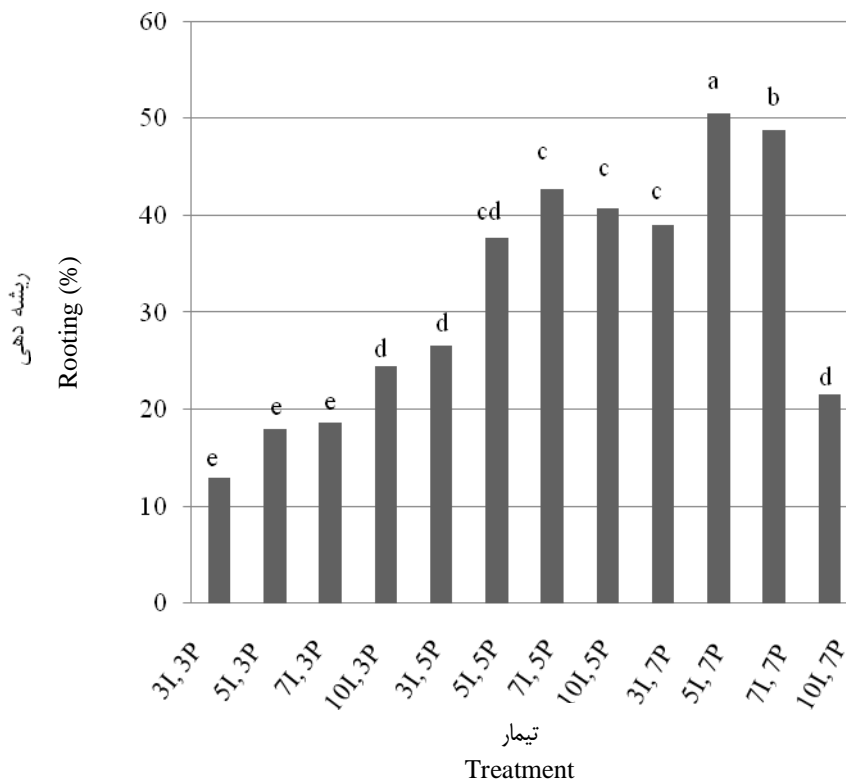
افزونگری این ریزنمونه‌ها با استفاده از محیط کشت درایور-کونیک که دارای  $2/2$  گرم در لیتر فیتاژل<sup>۱</sup>، ۱ میلی‌گرم در لیتر بوتیریک اسید،  $0/01$  میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بود، انجام شد. گیاهچه‌ها هر ۲۵ روز مورد واگشت قرار می‌گرفتند. pH محیط قبل از اضافه کردن فیتاژل و اتوکلاو کردن روی  $5/6$  تنظیم شد. ظروف شیشه‌ای قابل اتوکلاو با ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری و قطر ۶ سانتی‌متری برای افزون‌گری شاخه‌ها استفاده شدند و در هر ظرف ۴ شاخه کشت شد. این شاخه‌ها در اتاقک کشت و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. نور با استفاده از ۵ لامپ مهتابی که در ۱۵ سانتی‌متری بالای ظروف کشت قرار داشتند تأمین شد. شدت نور در بالای ظروف کشت ۵۵۰۰ لوکس بود. کلون‌های حاصل از این ارقام در تمام مراحل انجام آزمایش‌ها به‌عنوان ریزنمونه به کار رفتند.

#### محیط کشت القای ریشه

به‌منظور القای ریشه در ریزنمونه‌ها از سه آزمایش مختلف استفاده شد. در آزمایش اول ریزنمونه‌ها به محیط القاء که شامل چهار غلظت ایندول بوتیریک اسید (۳، ۵، ۷ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) بود منتقل شدند و هر یکاز تیمارها در تاریکی به مدت ۳، ۵ و ۷ روز در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در آزمایش دوم دو تیمار از آزمایش اول که بالاترین درصد ریشه‌زایی را داشتند، تعیین شد که این تیمارها مربوط به غلظت‌های ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید بودند. در آزمایش بعدی از ترکیب سه مقدار لیگنوسولفونات (۱، ۲ و ۳ گرم در لیتر) و دو مقدار ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید استفاده شد. شاخساره‌ها بعد از اعمال تیمارها به مدت ۷ روز در تاریکی در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

#### نمو ریشه

پس از القای ریشه، ریز شاخه‌ها به محیط نمو ریشه منتقل شدند. محیط نمو ریشه شامل یک چهارم غلظت محیط درایور-کونیک و



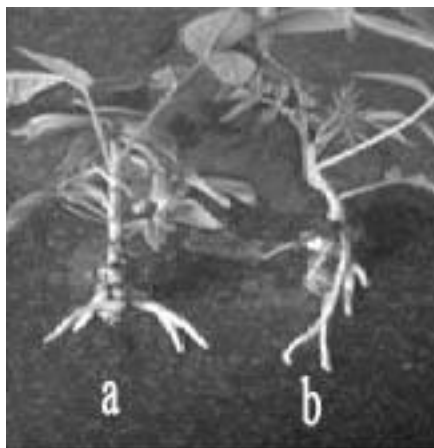
شکل ۱- برهمکنش ایندول بوتیریک اسید (میلی گرم در لیتر (I)) × دوره تاریکی (روز) (D) بر درصد ریشه‌زایی گردو رقم هارتلی. حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

Figure 1-Interaction effect of IBA concentrations (mg/l) × induction period (days) on rooting percentage of Walnut cv. 'Hartley' Based on Duncan's multiple range test, similar letters in each column are not significant at 1% level of probability 1%. IBA (mg/l)= I, Number of Days= D.

جدول ۱- اثر غلظت‌های مختلف ایندول بوتیریک اسید و مدت زمان القاء بر طول ریشه‌ریز ساقه‌های گردو رقم 'هارتلی'  
Table 1- Effect of different concentrations of IBA and induction period root length of walnut cv. 'Hartley'

| طول ریشه<br>Root Length<br>(cm) | مدت زمان القاء<br>Induction Period<br>(Number of Days) | غلظت ایندول بوتیریک اسید<br>IBA<br>(mg/l) |
|---------------------------------|--|---|
| 2.01e                           | 3  | 3   |
| 3.14e                           | 3  | 5   |
| 4.20e                           | 3  | 7   |
| 8.10d                           | 3  | 10  |
| 8.00d                           | 5  | 3   |
| 9.00d                           | 5  | 5   |
| 10.00c                          | 5  | 7   |
| 10.09c                          | 5  | 10  |
| 9.12d                           | 7  | 3   |
| 12.04a                          | 7  | 5   |
| 11.18b                          | 7  | 7   |
| 7.8d                            | 7  | 10  |

حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.  
Similar letters in each column are not significant at 1% of probability level based on Duncan's multiple range test.



شکل ۲- ریزساقه‌های ریشه‌دار شده گدو رقم 'هارتلی' مربوط به تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی (a) و ۷ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی (b)

Figure 2- Rooted microshoots walnut cv. 'Hartley' in 5 mg l<sup>-1</sup> IBA and 7 days darkness(a), and Rooted microshoots in 7 mg l<sup>-1</sup> IBA and 7 days darkness (b).

استیک اسید<sup>۱</sup> درون‌زاد در ساقه‌های گردو در تاریکی کشت داده شده نسبت به روشنایی گزارش شده است (۲۵).

ظرفیت ریشه‌زایی گردو، وابسته به میزان اکسین درون‌زاد و غلظت اکسین موجود در محیط کشت است (۲۷). این‌گونه به‌نظر می‌رسد که اکسین استفاده شده در محیط کشت القاء برای ریشه‌زایی، نقش تحریک‌کنندگی برای ساخت اکسین درون‌زاد ایفا می‌کند، اکسین موجود در محیط کشت منجر به بیان و تجمع ایندول استیک اسید و ایندول استیل آسپاراتیک<sup>۲</sup> در منطقه القاء ریشه در ۱۲-۶ ساعت می‌شود. تجمع ایندول استیک اسید موجب رشد و نمو غیرطبیعی سلول‌های تولیدکننده آن شده و ممکن است ریشه‌زایی به‌خاطر این تجمع و یا به‌خاطر ناکافی بودن ایندول استیک اسید برای انتقال به سلول‌های مجاور، مهار شود (۹). علت انتقال نمونه‌ها پس از القای ریشه به محیط نمو ریشه، تغییر دادن غلظت هورمون‌ها و همین‌طور تغییر میزان نمک‌های محیط کشت می‌باشد. بر این اساس در تحقیق حاضر با هدف کاهش غلظت نمک و تحریک ریشه‌زایی در این مرحله از آزمایش، از محیط کشت با غلظت یک چهارم DKW استفاده شد. به این علت که با کاهش نمک، انگیزش ریشه و ریشه‌زایی تسریع می‌شود (۳۱).

در ادامه با هدف بررسی نقش هم‌افزایی لیگنوسولفانات و اکسین آزمایش دوم با دو سطح اکسین (۵ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید) و سه سطح لیگنوسولفانات طراحی شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر مصرف ایندول بوتیریک اسید، لیگنوسولفانات و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد برای دو صفت درصد ریشه‌زایی و طول ریشه‌ها معنی‌دار شد (جدول تجزیه واریانس ذکر

در مجموع، بیشترین درصد ریشه‌زایی و طول ریشه در تیمار های ۵ و ۷ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتیریک اسید و ۷ روز تاریکی بدست آمد (شکل ۲)، بنابراین برای آزمایشات بعدی از دو غلظت ۵ و ۷ میلی‌گرم ایندول بوتیریک اسید استفاده شد. در این آزمایش درصد ریشه‌زایی گردوی کشت بافتی حدود ۴۰-۵۰ درصد به‌دست آمد که نسبت به نتایج آزمایشات وحدتی و همکاران (۳۲) که ریشه‌زایی ۵۸/۵-۳۷/۱ و نتایج به‌دست آمده توسط جی-آلمند و همکاران (۱۶) ریشه‌زایی حدود ۱۵-۵۰ درصد را به‌دست آوردند مقدار قابل قبول و مناسبی بود.

بررسی‌های انجام شده در رابطه با ریشه‌زایی گردو نشان داد که بالاترین درصد ریزشاخسارهای ریشه‌دار شده با ایندول بوتیریک اسید در مقایسه با سایر اکسین‌ها به‌دست آمد (۲۹). به‌طور مشابه، پی و همکاران (۲۴) نشان دادند که غلظت ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید برای ریشه‌زایی گردو ایده‌آل است. غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید سبب کاهش ریشه‌زایی و افزایش کالوس انتهایی، برگ‌ریزی و پژمردگی می‌شود و غلظت‌های پایین‌تر از ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید عدم ریشه‌زایی را در پی دارد. قرار دادن تیمارهای ریشه‌زایی در شرایط تاریکی به‌علت تخریب هورمون اکسین در مقابل نور می‌باشد و همین‌طور زمان القاء به غلظت اکسین به‌کار رفته بستگی دارد. هرچه غلظت اکسین کمتر باشد زمان قرارگیری در شرایط تاریکی بیشتر خواهد بود. القاء ریشه در تاریکی نتایج بهتری را نسبت به القاء در روشنایی داشته است، به‌طور مشابه گراسل و همکاران (۱۳) ریشه‌زایی ریزساقه‌های گردو را با القاء ۸ روزه در تاریکی به‌دست آوردند، دوره تاریکی کوتاه‌تر ریشه‌زایی را با شکست مواجه می‌کند. همچنین مشابه با این نتایج، کابونی و لاری (۳) نیز ریشه‌زایی بهتری از ساقه‌های گردو در تاریکی نسبت به روشنایی به‌دست آوردند. غلظت‌های بالاتری از ایندول

1- IAA

2- IAAsp

ریشه‌زایی (۶۱/۵٪) نسبت به نتایج آزمایش اول (۴۹/۱٪) بود (جدول ۲) البته با افزایش مصرف لیگنوسولفونات درصد ریشه‌زایی کاهش یافت که ممکن است در اثر سمیت این ترکیب باشد (شکل ۳).

نشده است). نتایج مقایسه میانگین صفت درصد ریشه‌زایی نشان داد مصرف لیگنوسولفونات در غلظت ۱ گرم در لیتر همراه با ۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید سبب افزایش قابل توجه درصد

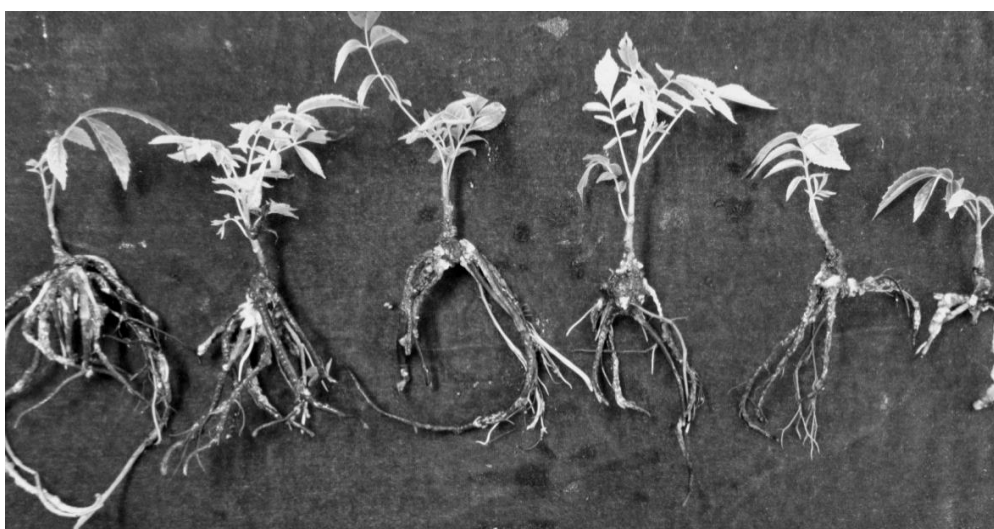
جدول ۲- اثر متقابل غلظت‌های مختلف لیگنوسولفونات × IBA در مدت زمان القای ۷ روزه بر طول ریشه ریزساقه‌های گردو رقم 'هارتلی'

Table 2- Interaction effect of different concentrations of IBA × lignosulfonate in 7 days induction period on rooting length of walnut cv. 'Hartley' cultivar

| طول ریشه<br>Root Length (cm) | مدت زمان القاء<br>Induction Period<br>(Number of Days) | غلظت لیگنوسولفونات<br>LIGN<br>(g/l) | غلظت ایندول بوتیریک اسید<br>IBA<br>(mg/l) |
|------------------------------|--|-------------------------------------|---|
| 8.30a                        | 7  | 1                                   | 5   |
| 7.60b                        | 7  | 1                                   | 7   |
| 7.32b                        | 7  | 2                                   | 5   |
| 5.12c                        | 7  | 2                                   | 7   |
| 5.07c                        | 7  | 3                                   | 5   |
| 4.80d                        | 7  | 3                                   | 7   |

حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

Similar letters in each column are not significant at 1% of probability level based on Duncan's multiple range test.



شکل ۳- ریشه‌زایی ریزساقه‌های گردو رقم 'هارتلی' در غلظت‌های مختلف لیگنوسولفونات و ۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (از چپ به راست غلظت لیگنوسولفونات افزایش داده شده است). در طول مدت القای ۷ روز

Figure 3- Rooted microshoots of walnut cv. 'Hartley' in different concentration of LIGN and 5 mg/l IBA (LIGN concentration was increased from left to right) in an induction period (7 number of Days)

ریشه‌زایی، افزایشی نشان ندادند (شکل ۴). همچنین مشابه با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های ما، کورس و همکاران (۱۷) از چندین سیستم کشت درون شیشه‌ای مانند، کالوس، تکثیر توده ساقه‌ای و ریشه‌زایی قلمه‌ها استفاده کردند و مشخص شد که لیگنوسولفونات بر روی رشد، تکثیر شاخه و ریشه‌زایی اثر مفیدی دارد. با توجه به مشاهدات هاسمن و همکاران (۱۵) و گاسپر و همکاران (۱۱) مشخص شده زمانی که لیگنوسولفونات ریشه‌زایی را تحت تأثیر نفتالین استیک اسید<sup>۱</sup> افزایش داد موجب افزایش میزان اکسین ایندول استیک اسید

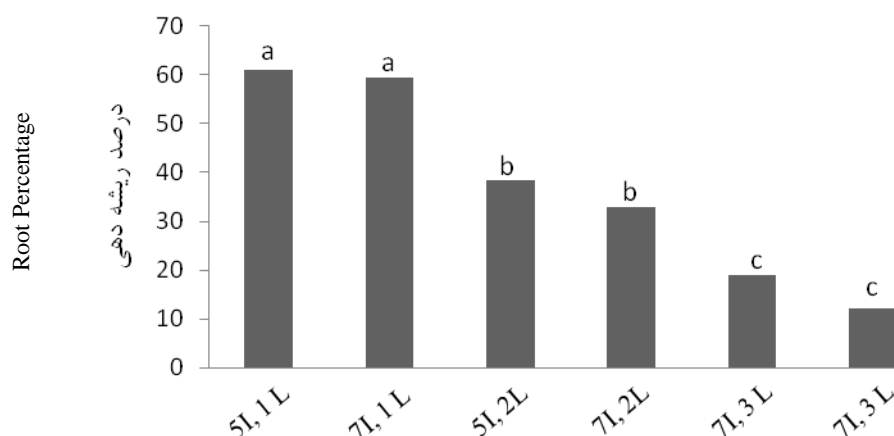
غلظت‌های بالاتر از ۳ گرم در لیتر لیگنوسولفونات باعث زردشدگی و نکروزه شدن و در نهایت سبب از بین رفتن ریزساقه‌ها در هر دو رقم شد.

مشخص شد که با افزایش میزان لیگنوسولفونات میزان ریشه‌زایی کاهش می‌یابد (شکل ۲). بالاترین میزان ریشه‌زایی در غلظت ۱ گرم در لیتر لیگنوسولفونات (۶۱/۵٪) و کمترین درصد ریشه‌زایی در غلظت ۳ گرم در لیتر لیگنوسولفونات (۱۳/۰٪) مشاهده شد (شکل ۳). بجز مقدار ۱ گرم در لیتر لیگنوسولفونات در ترکیب با ۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید سایر مقادیر بالاتر آن نسبت به تیمارهای شاهد

درون‌زاد نیز شد.

همکاران (۳۲) و جی-آلمند و همکاران (۱۶) که ریشه‌زایی به‌ترتیب ۵۸/۵-۳۷/۱ درصد و ۵۰-۱۵ درصد را به‌دست آوردند نتایج این آزمایش مبنی بر به‌کار بردن پلیمر لیگنوسولفونات به همراهی اکسین نتایج ارزشمندی در زمینه حل مشکل ریشه‌زایی گردو در شرایط کشت درون شیشه‌ای عرضه کرده است (ریشه‌زایی در حدود ۶۱ درصد).

در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد مصرف ۱ گرم در لیتر لیگنوسولفونات همراه با ۵ میلی گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و دوره تاریکی ۷ روز اثر مثبت قابل توجهی بر درصد ریشه‌زایی رقم گردو هارتلی دارد و می‌تواند به عنوان یک آزمایش موفق در ریزازدیایی گردو بطور تجاری توصیه شود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایشات انجام شده برای ریشه‌زایی گردو توسط وحدتی و



IBA (mg/l)= I  
LIGN (g/l)= L

شکل ۴- تاثیرات متقابل غلظت‌های مختلف لیگنوسولفونات × ایندول بوتیریک اسید بر درصد ریشه‌زایی گردو رقم 'هارتلی'. حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند

Figure 4- Interaction effect of different concentrations of LIGN × IBA on rooting percentage of walnut cv. 'Hartley'. Similar letters in each column are not significant at 1% of probability level based on Duncan's multiple range test



شکل ۵- گیاهان سازگار شده گردو رقم 'هارتلی' در گلدان

Figure 5- Adapted plants of walnut cv. 'Hartley' in pot

گردوی ایرانی دو آزمایش طراحی و اجرا شد. در اولین آزمایش اثر ایندول بوتیریک اسید به تنهایی و در آزمایش دوم اثر ترکیب این اکسین با سینرژست لیگنوسولفونات برای اولین بار روی گردو بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این آزمایش‌ها مشخص شد که ایندول بوتیریک اسید در غلظت‌های ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر و مدت زمان القاء ۷ روز بالاترین درصد ریشه‌زایی را داشت. بنابراین این دو غلظت برای انجام آزمایش بعدی انتخاب شدند. بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمار ۱ گرم در لیتر لیگنوسولفونات در ترکیب با ۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید ایجاد شد. نتایج حاصل از استفاده از این ماده که برای اولین بار روی ریشه‌زایی گردوی کشت بافتی مورد آزمایش قرار گرفت نشان داد که استفاده از سینرژست لیگنوسولفونات برای غلبه بر مشکل ریشه‌زایی ریزنمونه‌های گردو مفید می‌باشد.

در این آزمایش، محیط کشت ریشه‌زایی ترکیب شده با پلیمر سنتزی لیگنوسولفانات یک محیط کشت ریشه‌زایی جدیدی را تولید می‌کند که برای اولین بار برای بهبود ریشه‌زایی گردو مورد آزمایش قرار گرفت. این محیط کشت جدید غلظت مناسبی از لیگنوسولفانات را شامل می‌شود که ظرفیت ریشه‌زایی ریزساقه‌های گردو را بهبود می‌بخشد، اگرچه اطلاعات دقیق در مورد اثر متقابل مواد غذایی و لیگنوسولفانات به‌طور واضح مشخص نیست. مکانیسم عمل این پلیمر و مواد غذایی در محیط کشت ریشه‌زایی نیاز به مطالعات بیشتر دارد. گیاهان ریشه‌دار شده تحت تیمار لیگنوسولفونات و سازگار شده با محیط در شکل ۵ نشان داده شدند.

### نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، به‌منظور ریشه‌زایی ریزشاخه‌های رقم هارتلی

### منابع

- 1- Bahrami H., Vahdati K., Aflaki M., Bahrami S. 2009. Efficient Protocol of Regeneration of Walnut by using Somatic Embryos. p. 29-34. In The 6<sup>th</sup> National Biotechnology Congress of Iran, 13-15 Aug. 2009. Milad Tower Conference Hall, Tehran, Iran.
- 2- Barbas E., Jay-Allemand C., Doumas P., Chaillou S., Cornu D. 1993. Effects of gelling agent on growth, mineral composition and naphthoquinone content of in vitro explants of hybrid walnut tree (*Juglansregia* × *Juglansnigra*). Annual Science Forestry (Paris) 50, 177-186.
- 3- Caboni E., Damiano C. 2005. In vitro propagation of walnut (*Juglansregia*L.): Critical factors for the induction of the rooting response. ActaHorticulturae. 705, 329-333.
- 4- Cheng T.Y. 1975. Adventitious bud formation in culture of Douglas fir (*Pseudotsugamenziensis*Mirb, Franco). Plant Science. 5, 97-102.
- 5- Caboni E., Lauri P. 1995. Effetto di fattori chimici, fisici e trasformazioni localizzate sulla radicazione in vitro di noce. ItalusHortus 4(2):49-53.
- 6- Cheniany M., Ebrahimzadeh C., Masoudi-nejad A., Vahdati K., Leslie C. 2010. Effect of endogenous phenols and some antioxidant enzyme activities on rooting of Persian walnut (*Juglansregia*L.). African Journal of Plant Science. Vol. 4(12):479-487.
- 7- Cornu D., Jay-Allemand C. 1989. Micropropagation of hybrid walnut trees (*Juglansnigra* × *Juglansregia*) through culture and multiplication of embryos. Annual Science For (Paris) 46 (Supplement), 113s-116s.
- 8- Driver J.A., and Kuniyuki A.H. 1984. In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. Horticulture Science 19, 507-509.
- 9- Duroux L., Fontaine F., Breton C., Charpentier J., Doumas P., Jay-Allemand C. 1997. Biology of Root Formation and Development A. Altman, and Y. Waisel, (Eds). Plenum Press, New York, 75.
- 10- Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research. 50, 151-158.
- 11- Gaspar T., Kevers C., Penel C., Greppin H., Reid D., Thorpe T. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue cultures. In Vitro Cellular and developmental Biology 32:272-289.
- 12- Gross D., Parthier B. 1994. Novel natural substances acting in plant growth regulation. Journal of Plant Growth Regulation 13:93-114.
- 13- Gruselle R., Badia N., Boxus Ph. 1987. Walnut micropropagation, first results, ActaHorticulturae, 212:221-230.
- 14- Hasey J.K., Westerdahl B.B., Mücke W., Ramos D.E., Yeater J.T. 2001. Yield performance of ownrooted 'Chandler' walnut versus 'Chandler' walnut on Paradox rootstock. ActaHorticulturae 544, 489-493.
- 15- Hausman J., Kevers C., Gaspar T. 1995. Auxin-polyamine interaction in the control of the rooting inductive phase of poplar shoots in vitro. Plant Science 110:63-71.
- 16- Jey-Allemand C., Capelli P., Cornu D. 1992. Root development of in vitro hybrid walnut micro cuttings in a vermiculite containing gelrite medium. Scientia Horticulturae 51, 335-342.



- 17- Kevers C., Coumans M., De Greef W., Jacobs M., Gaspar T. 1981. Organogenesis in habituated sugarbeet callus: auxin content and protectors, peroxidase pattern and inhibitors. *Zeitschrift fur pflanzenzuchtung journal of plant breeding* 101:79-87.
- 18- Leslie C., McGranahan G. 1992. Micropropagation of Persian walnut (*Juglansregia*L.). In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 18. High-Tech and micropropagation. Springer, Berlin, pp. 136-150.
- 19- Lloyd G., McCown B. 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kamia latifolia*, by the use of shoot tip culture. *Proceeding of the Plant Propagator Society*. 30, 421-427.
- 20- López J.M. 2001. Field behavior of self-rooted walnut trees of different cultivars produced by tissue culture and planted in Murcia (Spain). *ActaHorticulturae* 544, 543-546.
- 21- McGranahan G., Driver J.A., Tulecke W. 1987. Tissue culture of Juglans In: *Cell and Tissue Culture in Forestry*, Vol. 3, (Bonga J.M.&Durzan D.J., eds.), MartinusNijhoff, Dordrecht, pp. 261-271.
- 22- McGranahan G., Leslie C., 1988. In vitro propagation of mature Persian walnut cultivars. *HortScience*. 23, 220.
- 23- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant*. 15, 473-479.
- 24- Pei Z., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klusener B., Allen GJ., Grill E., Schroeder JI. 2000. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cells. *Nature* 406: 731-734.
- 25- Redig P., Shaul O., Inze D., Van Montagu M., Van Onckelen H. 1996. Levels of endogenous cytokinins indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells. *FEBS Letters* 391:175-180.
- 26- Revilla M.A., Majada J., Rodriguez R. 1989. Walnut (*Juglansregia*L.) micropropagation. *Annual Science Forestry (Paris)* 46 (Suppl.), 149s-151s.
- 27- Ríos D., Sánchez-Olate M., Decarli M., Feito M., Rodríguez R. 2005. Bases moleculares del enraizamiento. In: Sánchez-Olate, M. & Ríos, D. (Eds) *Biotecnología vegetal en especies leñosas de interés forestal*. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción, Chile pp. 79-93.
- 28- Saadat Y., Hennerty M. 2001. Effects of different *in vitro* and *ex vitro* treatments on the rooting performance of Persian walnut (*Juglansregia* L.) microshoots. *ActaHorticulturae* 544, 473-480.
- 29- Sun Q., Sun H., Bell L. 2009. Effect of polyvinyl alcohol on in vitro rooting capacity of shoots in pear clones (*Pyrus communis* L.) of different ploidy. *Plant Cell Tissue Organ Culture* (2009) 99:299-304.
- 30- Telysheva G., Lebedeva G., Zaimenko N., Grivinya D., Dizhbite T., Virzina O. 1997. Novel lingo-silicon products promoting root system development. In: Altman A, Waisel Y. *Biology of root formation and development*. New York and London, Plenum Press 92-93.
- 31- Vahdati K., Leslie C., Zamani Z., McGranahan G. 2004. Rooting and acclimatization of in vitro grown shoots from mature trees of three Persian walnut cultivars. *HortScience*. 39, 324-327.
- 32- Vahdati, K., Razaee, R. and Mirmasoomi, M. 2009. Micropropagation of some dwarf and early mature walnut genotypes. *Biotechnology* 8: 171-175.
- 33- Van der Krieken W.M., Kodde J., Visser M., Tsardakas D., Blaakmeer A., de Groot K., Leegstra L. 1997. Increased induction of adventitious rooting by slow release auxins and elicitors. In: Altman A, Waisel Y. *Biology of root formation and development*. New York and London: Plenum Press 95-104.
- 34- Yamashita TT., inventor. 1996. Method and composition for promoting and controlling growth of plants. US patent 5549729.



## The Effect of Lignosulfonate on Rooting of Micropropagated Walnut

M. Aflaki Jalali<sup>1</sup>- A. Hatamzadeh<sup>2\*</sup> - H. Bahrami Sirmandi<sup>3</sup>

Received: 03-02-2016

Accepted: 21-12-2016

**Introduction:** Tissue culture is an effective technique for mass propagation of walnut that has many advantages. Plants were obtained by *in vitro* techniques in comparison with *in vivo* techniques are able to produce fruit earlier. However one of the major problems in walnut micropropagation is the difficulty of rooting. Auxin protection against auxin-oxidase system can make a major contribution to rooting. Among all the compounds that can play the synergistic role with auxin, they will probably have the ability of auxin protection against enzymes. In this experiment, the effect of lignosulfonate on rooting of micropropagated walnut was investigated for the first time.

**Materials and Methods:** In this experiment, Hartley cultivar of walnut was used. At first, explants were washed under running water for 1 hour then explants were placed in 70% alcohol for 1 minute and after that in 10% bleach for 10 minutes. After sterilization, under laminar air flow hood, explants were washed three times with distilled water and were cultured on Driver and Kuniyuki, 1984 (DKW) medium supplemented with 2.2 g l<sup>-1</sup> phytigel, 2 mg l<sup>-1</sup> BA, 0.01 mg l<sup>-1</sup> IBA and 30 g l<sup>-1</sup> sucrose (establishment stage). In multiplication stage, plantlets were subcultured every 25 days. All of the plantlets were placed in jars and were kept inside a growth chamber in photoperiod of 16 hours of light. All the multiplied shoots were used as explants for the trials. Two different tests were used to induce root in explants. At the first trial, explants were transferred to induction medium containing IBA (3, 5, 7 and 10 mg l<sup>-1</sup>) and treatments were placed in the dark for 3, 5 and 7 days. Treatments related to the concentrations of 5 and 7 mg l<sup>-1</sup> IBA and 7 days of darkness had the highest percentage of rooting. In the next experiment, the combination of three levels of lignosulfonate (1, 2 and 3 g l<sup>-1</sup>), and two concentrations of 5 and 7 mg l<sup>-1</sup> IBA were used. Treatments were placed in darkness for 7 days. After root induction, shootlets were transferred to root development medium. Root development medium includes a quarter of the DKW and vermiculite.

**Results and Discussion:** The aim of the first trial was to determine the concentration of IBA which produced the highest percentage of rooting. Among all the auxins, it was shown in other experiments that IBA has the best results in rooting of walnut. Due to this, we chose IBA as root induction hormone. With increasing of IBA concentrations and the induction period, rooting increased. Because the higher amount of exogenous auxin will induce the higher amount of endogenous auxin (IAAsp). However, rooting increased to a certain level and then began to decrease. With increasing concentrations above 10 mg l<sup>-1</sup> IBA rooting reduced and formation of callus in the shoot end increased which is not good for rooting because callus would not let the cells form roots. It seems that accumulation of IAAsp induces self-productive cells in root area to grow and duplicate abnormally and maybe root formation stops because of this accumulation and also because of the inadequacy of the IAAsp to transfer to neighboring cells. Also with increasing concentration, defoliation and wilting happens. A lower concentration of IBA (about 3 mg l<sup>-1</sup>) caused loss of rooting. The highest percentage of rooting for the first treatment with IBA was with 5 mg l<sup>-1</sup> IBA and 7 days of darkness and 7 mg l<sup>-1</sup> IBA and 7 days of darkness. The treatments were placed in darkness due to degradation of auxin under light condition. The induction time was related to auxin concentration. If the auxin concentration is less, the exposure time in the dark will be more. Root induction in the dark had better results than induction in light. The capacity of rooting in walnut is related to the amount of endogenous (IAAsp) and exogenous auxin. The amount of endogenous auxin is completely related to the cultivar and that is why some cultivars respond really well to the amount of exogenous hormones in rooting stage. Exogenous auxin induces the production of endogenous auxin (IAAsp). These two concentrations were chosen for next treatment with lignosulfonate. Rooting rate decreases with increasing lignosulfonate. However, the highest root induction among all the treatments was achieved on medium containing 1 g l<sup>-1</sup> lignosulfonate. The

1- M.sc. Graduated Student in Plant Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture Science, Guilan University, Rasht, Iran

2- Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture Science, Guilan University, Rasht, Iran

(\*- Corresponding Author Email: hatamzadeh@guilan.ac.ir)

3- M.sc. Graduated Student in Plant Crop Production, Department of Horticulture, Campus of Abureyhan, Tehran University, Tehran, Iran

reason of transferring all explants after root induction to root development medium was changing the hormone and salts concentrations. At this stage, the ¼ DKW was used as a medium. This is due to the reduction of salts, root induction and rooting accelerate.

**Conclusions:** In this study, the effect of lignosulfonate (auxin synergist) on rooting stage of Hartley cultivar of walnut was investigated. For this goal, two trials were done. The first trial was to determine the best concentration of IBA for rooting. Two concentrations were chosen and another trial was the effect of the combination of lignosulfonate with IBA on rooting. For the first time in this study, we showed that lignosulfonate can improve rooting of walnut.

**Keywords:** Indole butyric acid, Rooting, Synergist, Tissue Culture, Walnut

## بررسی اثر کم آبیاری و کم آبیاری موضعی ریشه بر عملکرد کمی و کیفی و کارایی مصرف آب انار

محمد سعید تدین<sup>۱\*</sup> - غلامرضا معاف پوریان<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۱۰

### چکیده

در این مطالعه اثر کم آبیاری و کم آبیاری موضعی متناوب منطقه ریشه بر روی عملکرد کمی و کیفی و کارایی مصرف آب انار (*Punicagranatum L. cv. Zardeanar*) در منطقه نیمه خشک شهرستان ارسنجان مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش بین سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۴ به مدت ۵ سال در کرت ثابت و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار و اعمال تیمار سیستم‌های مختلف کم آبیاری شامل ۱- آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه (۱۰۰ درصد نیاز آبی) (T<sub>1</sub>) - ۲- آبیاری غرقابی (۱۰۰ درصد نیاز آبی) بصورت متناوب (در هر دور آبیاری بصورت یک در میان یک طرف درخت آبیاری گردید) (T<sub>2</sub>) - ۳- آبیاری غرقابی (۵۰ درصد نیاز آبی) (T<sub>3</sub>) - ۴- آبیاری کامل قطره‌ای دو طرفه (۱۰۰ درصد نیاز آبی) (T<sub>4</sub>) - ۵- آبیاری قطره‌ای متناوب (۱۰۰ درصد نیاز آبی) (T<sub>5</sub>) و ۶- آبیاری قطره‌ای (۵۰ درصد نیاز آبی) (T<sub>6</sub>) در هر دور آبیاری انجام گرفت. هر تیمار آزمایشی شامل ۴ درخت و آزمایش جمعاً بر روی ۹۶ اصله درخت ۱۲ ساله یکنواخت انار انجام شد. عملیات داشت به طور یکنواخت در تمام درختان انار اعمال شد. نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین میزان عملکرد و کارایی مصرف آب از نظر آماری به ترتیب مربوط به تیمارهای خشکی موضعی ریشه یعنی آبیاری قطره‌ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب بود که به ترتیب موجب کاهش مصرف آب آبیاری به میزان ۳۵ و ۵۰ درصد نسبت به تیمار شاهد شدند. کاربرد آبیاری متناوب خشکی موضعی ریشه چه در روش مرسوم یعنی آبیاری غرقابی و چه در روش آبیاری قطره‌ای نسبت به کم آبیاری، موجب افزایش معنی‌دار کارایی مصرف آب به ترتیب به میزان ۷۸/۳۴ و ۷۱/۴ درصد نسبت به تیمار شاهد شد. کاهش میزان آب آبیاری تأثیر معنی‌دار بر کیفیت میوه داشت. بیشترین میزان نسبت کل مواد جامد محلول به اسید آب میوه انار مربوط به تیمار آبیاری قطره‌ای با ۵۰ درصد نیاز آبی بود که موجب افزایش ۹۵/۳۴ درصدی آن نسبت به تیمار شاهد شد. پس از آن تیمارهای آبیاری قطره‌ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب قرار داشتند که به ترتیب موجب افزایش ۶۱/۹۴ و ۵۲/۹۹ درصدی نسبت کل مواد جامد محلول به اسید آب میوه انار شدند. از نظر مدیریت آبیاری بهترین تیمار کاربرد آبیاری قطره‌ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی برای درخت انار رقم زرد انار بود و کاربرد این تیمار توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آبیاری متناوب، انار، خشکی ریشه، کیفیت میوه

### مقدمه

می‌باشد. چالش کمبود آب و محدودیت منابع آبی در سطح جهان موجب گردیده تا راه کارهایی برای حل این مشکل و افزایش راندمان مصرف آب در کشاورزی (مهمترین و بزرگترین مصرف کننده منابع آبی) ارائه دهند. قرار گرفتن کشور ما در منطقه خشک و نیمه خشک نیمکره شمالی و اینکه خشکسالی در آن امری دیرینه و طبیعی است از یک طرف و کاهش سطح آب‌های زیرزمینی (که عمده‌ترین منابع تامین کننده آب کشاورزی در کشور است) بر اثر برداشت بی‌رویه و در بسیاری از موارد غیر ضروری، و عدم توجه به تلفات آب‌های استحصال یافته، اتخاذ روش‌هایی در خصوص کاهش مصرف آب امری ضروری و حیاتی می‌نماید. در حال حاضر از روش‌های مختلف

کمبود آب یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده در تولید محصول تحت آبیاری در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا

۱- استادیار بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران (\* نویسنده مسئول: Email: m.tadayon@areeo.ac.ir)

۲- استادیار بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران  
DOI:10.22067/jhorts4.v0i0.53256

خوردگی میوه برخوردارند. افزایش رطوبت خاک قبل از تنش خشکی در شرایط آب و هوای گرم و وزش باد و کاهش عمق آبیاری به همراه تقسیط بیشتر کودهای محلول می تواند زیان ناشی از ترک خوردگی را تا حدود زیاد کاهش دهد (۲۳). در شرایط خشکی به دلیل تنش اسمزی، عدم تعادل یونی و تنش اکسیداتیو<sup>۱</sup>، رشد گیاه تحت تأثیر قرار می گیرد، گیاه ممکن است شرایط تنش را تحمل نماید اما میزان عملکرد آن به شدت کاهش می یابد (۱۵). ارتباط بین میزان عملکرد و ساختار سیستم ریشه از اهمیت زیادی برخوردار است. عملکرد تابعی از چگونگی توزیع سیستم ریشه در حجم وسیعی از خاک، جهت جذب آب و مواد غذایی می باشد (۱۶). به عبارت دیگر توسعه سیستم ریشه به عوامل ژنتیکی و محیطی مربوط بوده که از جمله عوامل محیطی مهم می توان به آبیاری<sup>۲</sup> سیستم ریشه برای دسترسی به آب در خاک اشاره نمود. در بررسی ارتباط بین گسترش سیستم ریشه در شرایط کم آبیاری (آبیاری اقتصادی) و میزان عملکرد درختان سیب، مشاهده شد که بیشترین میزان عملکرد در سه سال متوالی بدست آمد (۲۵). درخت انار به دلیل تحمل گرما، نسبت به خشکی مقاوم بوده و در مناطق خشک، نیمه خشک و حتی مناطق بیابانی پرورش می یابد (۴). باغ های انار، اخیراً به دلیل خشکسالی شدید و کاهش شدید منابع آب زیرزمینی در استان، نابود شده اند (۲۲). بنابراین منابع آبی می بایستی با کارایی بالاتری در تولید محصول مصرف گردند. برای رسیدن به این هدف، بهبود مدیریت مصرف آب در کشاورزی راه مهمی است. در این راستا به کارگیری سیستم های آبیاری و مدیریت کاربرد یکنواختی و برنامه ریزی شده آب و نیز به کارگیری تکنیک های آبیاری متناوب و کم آبیاری موضعی ریشه به عنوان روش های موثر در افزایش راندمان مصرف آب در سطح دنیا برای افزایش کارایی مصرف آب و تولید محصول به ویژه در باغبانی مطرح است. این آزمایش با هدف کاهش مقدار آب مصرفی درختان انار که از پتانسیل بالایی از نظر مقاومت به خشکی برخوردار می باشند و بررسی اثر کم آبیاری و کم آبیاری متناوب منطقه ریشه بر روی عملکرد کمی و کیفی و کارایی مصرف آب درختان انار رقم زرد انار در منطقه نیمه خشک شهرستان ارسنجان به مورد اجرا در آمد.

### مواد و روش ها

این مطالعه بر روی درختان انار (*Punicagranatum* L. cv. Zardeanar) در منطقه نیمه خشک شهرستان ارسنجان بین سال های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۴ به مدت ۵ سال اجرا گردید. اطلاعات جغرافیایی منطقه شامل عرض جغرافیایی ۲۹/۵۶ و طول جغرافیایی ۵۳/۱۶ و ارتفاع از سطح دریا معادل ۱۷۰۳ متر می باشد. در بهمن ماه

برای افزایش سازگاری و افزایش کارایی مصرف آب، بدون اثر معنی دار بر کاهش عملکرد استفاده می گردد. یکی از این روش های موثر در افزایش راندمان مصرف آب که طی سال های اخیر توسط پژوهش های زیادی در سطح دنیا تأیید شده است، تکنیک های کم آبیاری و کم آبیاری موضعی ریشه است. خشکی موضعی ریشه به عنوان یک روش کاهش آب مصرفی اولین بار در آمریکا بر روی پنبه انجام پذیرفت (۱۰). آبیاری متناوب قسمتی از ریشه در کاهش آب مصرفی پنبه بسیار تأثیر گذار بود (۸). این روش بطور موفقیت آمیز بر روی محصولات باغی از جمله گلابی، هلو (۲)، انگور (۱۷)، زیتون (۱۳)، مرکبات (۱۲ و ۲۴) و اخیراً بر روی انار (۲۲) انجام پذیرفته است. تحقیقات انجام شده بر محصولات باغی مانند انگور (۱۱)، گوجه فرنگی (۱۴، ۲۸ و ۲۹) و هلو (۹) در هر دو شرایط گلخانه ای و مزرعه ای نشان داد که آبیاری موضعی متناوب ریشه باعث کاهش مصرف آب آبیاری به میزان ۵۰-۳۰ درصد می گردد، این در حالی است که اثر معنی دار بر کاهش عملکرد نداشته و حتی صفات کیفی میوه افزایش یافته است (۱۹). در خشکی موضعی ریشه، یک قسمت ریشه مرطوب و قسمت دیگر خشک نگه داشته می شود، چنانکه طرف مرطوب و خشک مطابق تخلیه رطوبتی خاک و مصرف آب گیاه به طور متناوب تغییر می کند. دلیل اصلی اثر مثبت خشکی موضعی ریشه، ارسال سیگنال خشکی خاک توسط قسمت خشک ریشه به اندام هوایی، عمده‌تاً توسط هورمون آسازیک اسید، و عکس العمل اندام هوایی از جمله بسته شدن روزنه ها و کاهش سطح برگ می باشد (۳ و ۱۲). درخت انار با نام علمی *Punicagranatum* L. بومی ایران بوده و در سایر شرایط آب و هوایی مشابه به عنوان درخت غیربومی مورد کشت و کار قرار گرفته است (۲۱). انار به دلیل تحمل در برابر گرما، مقاوم به خشکی بوده و در مناطق خشک و نیمه خشک و حتی در شرایط بیابانی رشد می کند (۴). مناطق با رطوبت نسبی یا بارندگی بالا برای پرورش این میوه مساعد نبوده، و در این شرایط از شیرینی کمتر برخوردار بوده و مستعد ترک خوردگی می باشد. تنش خشکی و پس از آن آبیاری سنگین و یا بارندگی و نیز سرمای زودرس در زمان رسیدن میوه کیفیت میوه را تحت تأثیر قرار می دهد (۲۷). به دلیل کاهش تقسیم سلولی بویژه در سطح پوست میوه همزمان با افزایش حجم میوه و تابش آفتاب در شرایط خاص، نارسایی های اکوفیزیولوژیکی از جمله آفتاب سوختگی و ترک خوردگی بر روی ارقام حساس ایجاد می شود و منشأ این عوارض اغلب مربوط به وضعیت تغذیه ای، جذب آب و ضخامت پوست میوه می باشد. آبیاری صحیح و تغذیه مناسب بویژه در دوره های خشک، ریزش و ترک خوردگی میوه را کاهش می دهد (۶). معمولاً پس از یک دوره دمای بالا و وزش باد، آبیاری سنگین موجب افزایش درصد ترک خوردگی و ریزش میوه می شود (۲۰). خاک های شنی با قابلیت نگهداری رطوبت پایین و حاصلخیزی پایین، از حساسیت بالاتری نسبت به ترک

1-Oxidative stress

2-Hydrotropism

جدول ۱ - نتایج حاصل از تجزیه فیزیکی-شیمیایی نمونه خاک در محل آزمایش

Table 1- The results of soil sample physico-chemical analysis in experimental location

| عمق خاک (cm) | جرم ویژه ظاهری Bulk density (g cm <sup>-3</sup> ) | جرم ویژه حقیقی Particle density (g cm <sup>-3</sup> ) | هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS m <sup>-1</sup> ) | PH  | کل مواد خنثی شونده Total neutralizing value (%) | کربن الی Organical carbon (%) | فسفر Phosphorus (mg.kg <sup>-1</sup> ) | پتاسیم Potassium (mg.kg <sup>-1</sup> ) | منیزیم Magnesium (meq.l <sup>-1</sup> ) | کلسیم Calcium (meq.l <sup>-1</sup> ) | ظرفیت مزرعه Field capacity (%) | نقطه پژمردگی دائم Permanent wilting point (%) | مقدار آب قابل دسترس Available water (%) | شن Sand (%) | سیلت Silt (%) | ریس Clay (%) | بافت خاک Soil texture |
|--------------|---|---|--|-----|---|-------------------------------|--|---|---|--------------------------------------|--------------------------------|---|---|-------------|---------------|--------------|-----------------------|
| 0-30         | 1.42  | 2.56  | 1.86   | 8.3 | 39  | 1.65                          | 1.2                                    | 426                                     | 19                                      | 24                                   | 41.5                           | 17.4  | 12                                      | 16          | 46            | 38           | SiltyClayLoam         |
| 30-60        | 1.42  | 2.58  | 1.56   | 8.1 | 42  | 1.60                          | 0.9                                    | 412                                     | 18                                      | 26                                   | 40.5                           | 16.8  | 11.8                                    | 14          | 46            | 40           | SiltyClayLoam         |
| 60-90        | 1.40  | 2.52  | 1.52   | 8.1 | 42  | 1.36                          | 0.9                                    | 386                                     | 18                                      | 24                                   | 40.4                           | 16.8  | 11.8                                    | 12          | 47            | 41           | SiltyClayLoam         |

سال ۱۳۸۹ تعداد ۹۶ اصله درخت مشابه و یکنواخت انار با فاصله کشت ۴×۶ متر و عمر ۱۲ سال و ۵ سال باردهی انتخاب گردید. نمونه مرکب خاک محل آزمایش از اعماق ۰-۳۰، ۳۰-۶۰، ۶۰-۹۰ سانتیمتر تهیه و جهت تعیین خواص فیزیکی-شیمیایی به آزمایشگاه منتقل گردید. تجزیه فیزیکی-شیمیایی خاک شامل اندازه گیری نیتروژن به روش کج‌لدال، فسفر قابل جذب با روش اولسن، پتاسیم قابل جذب با روش استات آمونیوم یک نرمال، کربن آلی با روش دی کرمات پتاسیم، بافت خاک با روش هیدرومتری، درصد مواد خنثی شونده به روش تیتراسیون، هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک با دستگاه الکتروکائداکتومتر، pH خاک در گل اشباع به وسیله الکتروود شیشه‌ای تعیین شد (۱). جدول ۱ و ۲ نتایج تجزیه فیزیکی-شیمیایی خاک و آب منطقه مورد آزمایش را نشان می‌دهد. خاک باغ مورد مطالعه عمیق با بافت خاک نسبتاً سنگین بود. پارامترهای هواشناسی مورد نیاز از ایستگاه هواشناسی سینوپتیک سازمان هواشناسی واقع در منطقه تهیه گردید. و بر اساس آن تبخیر و تعرق مرجعاً استفاده از معادله فائو-پنمن - مانیت (FPM) محاسبه شد. آزمایش در کرت‌های ثابت و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار و اعمال تیمار سیستم‌های مختلف کم آبیاری شامل ۱- آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه (۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه ET<sub>C</sub>) (T<sub>1</sub>) - ۲ آبیاری غرقابی (۱۰۰ درصد نیاز آبی ET<sub>C</sub>) بصورت متناوب<sup>۱</sup> در هر دور آبیاری (در هر دور آبیاری بصورت یک در میان یک طرف درخت آبیاری گردید) (T<sub>2</sub>) - ۳ آبیاری غرقابی (۵۰ درصد نیاز آبی ET<sub>C</sub>) (T<sub>3</sub>) - ۴ آبیاری کامل قطره ای دو طرفه (۱۰۰ درصد نیاز آبی ET<sub>C</sub>) (تعداد ۸ عدد قطره چکان با دبی ۲ لیتر در ساعت در دو طرف هریک با شبکه مستقل) (T<sub>4</sub>) - ۵ آبیاری قطره ای متناوب (۱۰۰ درصد نیاز آبی ET<sub>C</sub>) (T<sub>5</sub>) - ۶ آبیاری قطره‌ای (۵۰ درصد نیاز آبی ET<sub>C</sub>) (T<sub>6</sub>)<sup>۲</sup> در هر دور آبیاری انجام گرفت. هر تیمار آزمایشی شامل ۴ تکرار و در هر کرت ۴ درخت و آزمایش جمعاً بر روی ۹۶ اصله درخت ۱۲ ساله یکنواخت انار انجام شد.

دور آبیاری ثابت و با توجه به نیاز آبی گیاه بر اساس راندمان آبیاری قطره‌ای هفتاد درصد و آبیاری سطحی چهل درصد، میزان آب آبیاری برای تیمارهای مختلف آزمایشی (کاهش مصرف آب آبیاری با توجه به نیاز آبی گیاه) محاسبه و با کانتور حجمی اعمال گردید. در این آزمایش میزان تغییرات رطوبتی خاک تا عمق ۹۵ سانتی متر در فواصل پس از آبیاری و در طول فصل رشد فعال گیاه توسط نوترون متر در تیمار شاهد اندازه گیری شد.

- 1- Alternate partial root-zone irrigation
- 2 - Regular deficit irrigation
- 3- Alternate partial root-zone drip irrigation
- 4- Regular deficit drip irrigation

هیدرولیکی خاک به روش آزمایشگاهی در زمان ها و اعماق مختلف یا تشریح پروفیل آب خاک مقدار واقعی تبخیر و تعرق گیاه (ETc) به دست آمد. اطلاعات هواشناسی منطقه مورد آزمایش نیز به منظور بررسی بیلان رطوبتی خاک در سال های آزمایش تهیه گردید (جدول ۳). برای تعیین ضریب گیاهی از معادله ۱ استفاده شد.

$$K_c = \frac{ET_c}{ET_0} \quad (1)$$

که در آن، ET<sub>c</sub> و ET<sub>0</sub> به ترتیب تبخیر و تعرق گیاه و تبخیر و تعرق مرجع هستند.

میزان نیاز آبی گیاه بر اساس بیلان رطوبتی، تبخیر و تعرق واقعی گیاه، میزان آب نسبی برگ و کارایی مصرف آب گیاه بر اساس میزان عملکرد کل به ازاء آب مصرفی گیاه محاسبه گردید. میانگین طول دوره رشد درخت انار در چهار مرحله رشد تعیین و با استفاده از اطلاعات منطقه ای و محاسبه ET<sub>0</sub> و داده های بدست آمده از روش موازنه حجمی آب خاک جهت تعیین تبخیر و تعرق گیاه (ETc)، ضریب گیاهی K<sub>c</sub> در شرایط نرمال محاسبه گردید و با توجه به آن میزان ET<sub>c</sub> در طول مراحل مختلف رشد درخت انار محاسبه گردید (جدول ۴).

پس از محاسبه ضریب گیاهی انار با توجه به میزان تبخیر و تعرق مرجع در هر سال آزمایش، در شرایط نرمال (بدون تنش) میانگین نیاز آبی گیاه در منطقه معادل با ۷۸۳ میلی متر محاسبه گردید. سایر صفات شامل عملکرد کل درخت، کارایی مصرف آب، اندازه و وزن میوه، درصد آب میوه، رنگ، تاریخ رسیدن، قند و اسیدیته آب میوه شامل کل مواد جامد قابل حل (TSS)، اسید کل (TA)، نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید کل و اسیدیته میوه، رنگ دانه (آریل) و ضخامت پوست و درصد ترک خوردگی میوه بود (۷). ویژگی های رنگ آریل شامل درخشندگی (L)، رنگ قرمز- سبزی (Green-Red) (a) و رنگ آبی- زرد (Blue-Yellow) (b) توسط شاخص های تعیین رنگ میوه لایباند ارزیابی شد. محاسبه عملکرد کل پس از برداشت محصول با وزن کردن میوه های برداشتی انجام شد. قطر میوه به وسیله کولیس، اسید کل آب میوه به روش تیتراسیون، اسیدیته آب میوه با پ اچ متر، رنگ میوه بوسیله رنگ سنجی لایباند<sup>۱</sup>، میزان قند یا مواد جامد قابل حل توسط رفاکتومتر اندازه گیری شد. تجزیه واریانس داده های به دست آمده از آزمایش توسط نرم افزار MSTATC انجام و مقایسه میانگین داده ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن (DMRT) انجام شد و معادلات رگرسیونی و ضرایب همبستگی ما بین صفات محاسبه و توسط نرم افزار Excel رسم گردید.

جدول ۲- نتایج تجزیه شیمیایی آب آبیاری مورد استفاده در آزمایش

| هدایت الکتریکی<br>Electrical<br>conductivity<br>EC×10 <sup>6</sup> | اسیدیته<br>Acidity<br>pH | بیکربنات<br>HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | کلر<br>CL <sup>-</sup> | سولفات<br>SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | میلی الی والانت در لیتر<br>(meq.l <sup>-1</sup> ) |   |
|--|--------------------------|---|------------------------|---|---|---|
|  |                          |   |                        |   | مجموع<br>آنیونها<br>Sum anions                    | کلسیم +<br>منیزیم<br>Ca <sup>2+</sup> +Mg <sup>2+</sup> |
| 710  | 7.6                      | 4.4                                       | 2.9                    | 3.1                                     | 8.2   | 6.1   |
|  |                          |   |                        |   |   | 2.2   |
|  |                          |   |                        |   |   | 8.3   |

بر اساس روش موازنه آب خاک در مزرعه (۵) و هدایت

جدول ۳- اطلاعات میانگین ماهیانه دوره ده ساله بدست آمده از ایستگاه هواشناسی سینوپتیک منطقه آرسنجان و محاسبه  $ET_0$   
 Table 3- The information of monthly means in ten years' periods from synoptic climatology of Arsenjan region and  $ET_0$  calculation.

| ماه<br>month  | کمیته دما<br>Min Temp<br>(°C) | بیشینه دما<br>Max Temp<br>(°C) | رطوبت<br>Humidity<br>(%) | سرعت باد<br>Wind<br>(m/s) | ساعت آفتاب<br>Sun hours | تشعشع<br>Rad<br>(MJm <sup>-2</sup> day <sup>-1</sup> ) | تبخیر و تعرق<br>مرجع<br>ET <sub>0</sub><br>(mmday <sup>-1</sup> ) | بارندگی<br>Rain<br>(mm) | باران موثر<br>Eff. rain<br>(mm) |      |
|---------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--|---|-------------------------|---------------------------------|------|
| فروردین       | March-April                   | 8                              | 21.4                     | 45                        | 0.9                     | 7.9  | 20.7  | 3.75                    | 67.1                            | 59.9 |
| اردیبهشت      | April-May                     | 14                             | 28.7                     | 28                        | 1.3                     | 10.2   | 25.1  | 5.17                    | 1.1                             | 1.1  |
| خرداد         | May-June                      | 19.4                           | 34.5                     | 25                        | 1.3                     | 11.3   | 27  | 6.11                    | 0.4                             | 0.4  |
| تیر           | June-July                     | 22.1                           | 37.3                     | 19                        | 1.2                     | 10.2   | 25.1  | 6.48                    | 0                               | 0    |
| مرداد         | July-August                   | 22.2                           | 36.8                     | 18                        | 1.2                     | 10.9   | 25.3  | 6.09                    | 0                               | 0    |
| شهریور        | August-September              | 18.9                           | 33.9                     | 19                        | 1.2                     | 10.4   | 22.6  | 5.13                    | 0.4                             | 0.4  |
| مهر           | September-October             | 13.9                           | 28.7                     | 23                        | 1.4                     | 10   | 19.1  | 3.72                    | 0.1                             | 0.1  |
| آبان          | October-November              | 8.9                            | 21.9                     | 39                        | 1.2                     | 7.9  | 14.1  | 2.63                    | 11.8                            | 11.6 |
| آذر           | November-December             | 2                              | 13.6                     | 53                        | 1.1                     | 7.3  | 12.3  | 1.77                    | 42.6                            | 39.7 |
| دی            | December-January              | -0.3                           | 11.6                     | 53                        | 0.9                     | 7.6  | 13.3  | 1.58                    | 19.4                            | 18.8 |
| بهمن          | January-February              | 1.4                            | 13.7                     | 55                        | 1                       | 7.6  | 15.5  | 2.14                    | 36.3                            | 34.2 |
| اسفند         | February-March                | 4.9                            | 19.2                     | 44                        | 1.1                     | 8.7  | 19.6  | 3.27                    | 37                              | 34.8 |
| میانگین و جمع | Sum and Means                 | 11.3                           | 25.1                     | 35                        | 1.2                     | 9.2  | 20  | 3.99                    | 216.2                           | 201  |

جدول ۴- میانگین مقادیر محاسبه شده  $ET_c$ ،  $ET_0$  و  $K_c$  درخت زرد انار طی فصل رشد  
 Table 4- Means of calculated  $ET_c$ ،  $ET_0$  and  $K_c$  for Zarde-anar pomegranate during growth period

| مرحله رشد<br>Growth stage | بر حسب تقویم<br>Calendar | طول دوره<br>Duration<br>(day) | $ET_c$<br>(mm) | $ET_0$<br>(mm) | $K_c$ |
|---------------------------|--------------------------|-------------------------------|----------------|----------------|-------|
| اولیه<br>Initial          | 25 April-25 May          | 30                            | 74.61          | 144.15         | 0.52  |
| توسعه<br>Development      | 25 May-15 July           | 50                            | 182.13         | 289.38         | 0.63  |
| میانی<br>Mid. season      | 15 July-25 November      | 130                           | 516.70         | 705.90         | 0.73  |
| نهایی<br>Late season      | 25 November - December   | 30                            | 55.43          | 85.13          | 0.65  |

## نتایج و بحث

قطره ای دو طرفه از نظر میزان عملکرد در گروه دوم آماری قرار داشت و موجب افزایش آن به میزان ۴۰/۸۹ درصد شد. دو تیمار آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی اختلاف معنی دار آماری از نظر عملکرد با شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه نداشتند. کلیه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد موجب افزایش کارایی مصرف آب شدند. تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب نسبت به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل

جدول تجزیه واریانس مرکب داده ها (جدول ۵) نشان دهنده اثر معنی دار تیمارهای آزمایشی بر روی میزان عملکرد و کارایی مصرف آب می باشد. بیشترین میزان عملکرد میوه مربوط به تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب بود که به ترتیب موجب افزایش عملکرد نسبت به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه به میزان ۶۸/۷۷ و ۴۹/۶۵ درصد شد (جدول ۶). تیمار آبیاری کامل



غرقابی عرف منطقه به ترتیب موجب کاهش مصرف آب آبیاری به میزان ۳۵ و ۵۰ درصد و افزایش ۷۸/۳۴ و ۷۱/۴ درصد کارایی مصرف آب نسبت به تیمار شاهد شدند. بیشترین مقادیر کارایی مصرف آب درختان انار مربوط به تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب بود که پس از آن تیمارهای آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی در گروه دوم آماری قرار داشتند و موجب افزایش کارایی مصرف آب به ترتیب به میزان ۵۹/۸۹ و ۵۸/۸۶ درصد نسبت به تیمار شاهد شدند. تیمار آبیاری کامل قطره ای دو طرفه نسبت به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه، موجب افزایش کارایی مصرف آب به میزان ۴۰/۸۳ درصد و کاهش مصرف آب آبیاری به میزان ۳۰ درصد شد. کانگ و ژنگ (۱۳) اثر خشکی متناوب بخشی از ریشه (PRD) روی درختان هلو با استفاده آبیاری قطره ای مورد بررسی قرار دادند. این تیمار موجب کاهش مصرف آب آبیاری خالص به میزان ۲۳ درصد شد. جبران آب در قسمت مرطوب ریشه، در روش PRD موجب جلوگیری از کاهش تعداد میوه، عملکرد درخت و عملکرد کل در واحد سطح شد و کارایی مصرف آب در درختان گلایی و راندمان استحصال آب آبیاری بهبود یافت (۱۳). با توجه به نتایج آزمایش ما کاربرد آبیاری متناوب PRD چه در روش مرسوم یعنی آبیاری غرقابی و چه در روش آبیاری قطره ای نسبت به کم آبیاری DI، موجب افزایش معنی دار کارایی مصرف آب در درختان انار می شود. اگرچه روش DI در مقایسه با تیمارهای شاهد و آبیاری کامل قطره ای دو طرفه (با توجه به نیاز آبی گیاه) از کارایی مصرف آب بالاتری برخوردار بود، اما بیشترین درصد تشکیل میوه مربوط به تیمار آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب بود که در یک گروه آماری قرار داشتند. تیمار آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی از نظر درصد تشکیل میوه در گروه دوم آماری قرار داشت که این مسأله نشان دهنده اهمیت آبیاری متناوب در تشکیل میوه انار می باشد (جدول ۶). تجزیه واریانس مرکب داده ها (جدول ۵ و ۷) نشان دهنده اثر معنی دار تیمارهای آزمایش بر صفات کمی و کیفی اندازه گیری شده از جمله میانگین زمان رسیدن میوه، قطر میوه، وزن میوه، ضخامت پوست، درصد ترک خوردگی پوست، کیفیت رنگ پوست و دانه (آریل)، میزان کل مواد جامد قابل حل، اسید کل، نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید و اسیدیته آب میوه انار رقم زرد انار در آزمایش بود. همچنین اثر سال و برهم کنش آن با تیمارهای آزمایشی در تعدادی از صفات معنی دار شد. میانگین زمان رسیدن میوه در تیمارهای آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی، آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب، کمتر بود و بیشترین میانگین زمان رسیدن میوه مربوط به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه به میزان

۱۵۶/۲۷ روز بود. تیمارهای آبیاری کامل قطره ای دو طرفه و آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی در گروه آماری دوم قرار داشتند. بیشترین اندازه قطر میوه انار مربوط به تیمارهای آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه و آبیاری کامل قطره ای دو طرفه به ترتیب به میزان ۱۸/۸۶ و ۱۸/۲۱ سانتیمتر بود. سایر تیمارهای آزمایشی از این نظر اختلاف معنی دار نشان ندادند. در این آزمایش دو روش PRD در آزمایش ما موجب کاهش زمان رسیدن میوه به میزان ۱۰-۷ روز گردید، همچنین موجب کاهش قطر میوه به ترتیب به میزان ۶/۸ و ۸ درصد و وزن میوه به ترتیب به میزان ۷/۹ و ۵/۳ درصد نسبت به شاهد شدند، اما درصد میوه بندی و میانگین عملکرد کل افزایش یافت (جدول ۶). این نتایج منطبق بر نتایج به دست آمده از آزمایشات پرویزی و همکاران (۲۲) می باشد. این محققین در آزمایش خود نشان دادند که قطر میوه انار رقم رباب در آبیاری معمول و تنش کم، بیشتر از قطر میوه در تنش آبی شدید بوده، اما عملکرد کل درخت بیشتر تابع تعداد میوه بوده و وضعیت گلدهی و میوه بندی تأثیر بسزایی بر روی عملکرد دارد. بیشترین ضخامت پوست میوه مربوط به تیمارهای آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه و آبیاری کامل قطره ای دو طرفه به ترتیب به میزان ۳/۶۶ و ۳/۶۵ میلی متر بود. کمترین ضخامت پوست میوه به میزان ۲/۸۶ میلی متر مربوط به تیمار آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی بود.

بالاترین افزایش درصد ترک خوردگی میوه نسبت به تیمار شاهد مربوط به تیمار آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی با میزان افزایش ۸۲ درصد بود. پس از آن تیمارهای آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب و آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی به ترتیب موجب افزایش درصد ترکیدگی میوه انار به میزان ۵۵/۷۱ و ۵۵/۴۸ درصد نسبت به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه شدند (جدول ۶). به طور کلی اعمال کلیه تیمارها در مقایسه با تیمار شاهد موجب بهبود رنگ میوه انار شد و بیشترین کیفیت رنگ میوه متعلق به تیمارهای آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب، آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی بود و دو تیمار آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی و آبیاری کامل قطره ای دو طرفه در گروه دوم آماری قرار گرفتند (جدول ۸). در این آزمایش از نظر کیفیت پوست، کاهش میزان آب آبیاری موجب افزایش درصد ترک خوردگی و ضخامت پوست انار گردید. کیفیت میوه از جمله رنگ میوه، کل مواد جامد قابل حل، اسید کل، نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید، اسیدیته و رنگ دانه با کاهش میزان آب مصرفی بهبود یافت. لوپس و همکاران (۱۷ و ۱۸) گزارش نمودند که کاربرد PRD کیفیت انگور را در مرحله ذخیره قند افزایش می دهد.

جدول ۵- میانگین مربعات تجزیه واریانس مرکب صفات اندازه گیری شده انار رقم زرد انار طی پنج فصل رشد  
Table 5- Compound means square analysis of measured pomegranate cv. Zarde-anar characteristics in five growth seasons

| منابع تغییر<br>Source of variation         | درجه آزادی<br>Degree of freedom | عملکرد<br>Fruit Production | کارایی مصرف آب<br>WUE | درصد میوه بندی<br>Fruit set | میانگین زمان رسیدن میوه<br>Mean of fruit ripening | قطر میوه<br>Fruit diameter | وزن میوه<br>Fruit weight | ضخامت پوست<br>Peel thickness | درصد ترک خوردگی پوست<br>Peel cracking |
|--|---------------------------------|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|---|----------------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| سال<br>Year                                | 4                               | 266.321**                  | 62.85                 | 0.361**                     | 612.601 <sup>ns</sup>                             | 2281.354 <sup>ns</sup>     | 312.144 <sup>ns</sup>    | 67.027 <sup>ns</sup>         | 3421.24 <sup>ns</sup>                 |
| خطا<br>Error                               | 8                               | 24.62                      | 65.78                 | 0.421                       | 835.42  | 1705.105                   | 552.511                  | 89.05                        | 2367.407                              |
| تیمار<br>Treatment                         | 5                               | 278.41**                   | 2456.24**             | 6452.315**                  | 3541.26**   | 6713.641**                 | 3214.021**               | 4681.254**                   | 3461.085**                            |
| سال × تیمار<br>Year × Treatment            | 20                              | 543.98**                   | 159.312 <sup>ns</sup> | 1641.94*                    | 2807.301 <sup>ns</sup>                            | 3231.201 <sup>ns</sup>     | 2514.79**                | 3167.54 <sup>ns</sup>        | 2361.054 <sup>ns</sup>                |
| خطا<br>Error                               | 25                              | 51.97                      | 189.64                | 714.51                      | 2310.156  | 3054.18                    | 1048.22                  | 2891.063                     | 1964.25                               |
| ضریب تغییر<br>Coefficient of variation (%) |                                 | 7.02                       | 6.54                  | 7.24%                       | 6.33%   | 8.62%                      | 9.23%                    | 6.51%                        | 7.11%                                 |

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد آماری از نظر آماری عدم معنی دار  
\* , \*\* significant at 5 and 1 statistical levels respectively <sup>ns</sup> non- significant

جدول ۶- اثر تیمارهای کم آبیاری موضعی ریشه بر برخی صفات اندازه گیری شده انار رقم زرد انار  
Table 6- The effect of root alternate deficit irrigation treatments on measured parameters of Zarde-anar pomegranat

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments   | عملکرد<br>Fruit production<br>(kg.tree <sup>-1</sup> ) | کارایی مصرف آب<br>WUE<br>(kg.m <sup>-3</sup> ) | درصد میوه بندی<br>Fruit set (%) | میانگین زمان رسیدن میوه<br>Mean of fruit ripening (day) | قطر میوه<br>Fruit diameter (cm) | وزن میوه<br>Fruit weight (g) | ضخامت پوست<br>Peel thickness (mm) | درصد ترک خوردگی پوست<br>Peel cracking (%) |
|---|--|--|---------------------------------|---|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|---|
| آبیاری کامل غرقابی عرف منقطع (با توجه به نیاز آبی گیاه)                                       | T1   | 9.65e  | 2.28e                           | 156.27a   | 18.86a                          | 237.35ab                     | 3.66a                             | 8.67de                                    |
| آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب (Alternate partial root-zone irrigation) | T2   | 16.54ab  | 4.85ab                          | 148.23bc  | 17.58c                          | 218.40c                      | 3.12c                             | 13.50b                                    |
| آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی (Regular deficit irrigation)                                | T3   | 15.33c   | 4.13cd                          | 152.40b   | 17.33cd                         | 198.60d                      | 2.86d                             | 15.78a                                    |
| آبیاری کامل قطره ای دوطرفه (با توجه به نیاز آبی گیاه)   | T4   | 13.59d   | 3.89d                           | 149.70b   | 18.21ab                         | 246.75a                      | 3.65ab                            | 9.64d                                     |
| آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی (Alternate partial root-zone drip irrigation)      | T5   | 17.21a   | 5.27a                           | 145.40bc  | 17.34cd                         | 224.60b                      | 3.45b                             | 12.14c                                    |
| آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی (Regular deficit drip irrigation)                          | T6   | 15.43c   | 4.67b                           | 140.84c   | 17.12cd                         | 206.41cd                     | 3.15c                             | 13.48bc                                   |

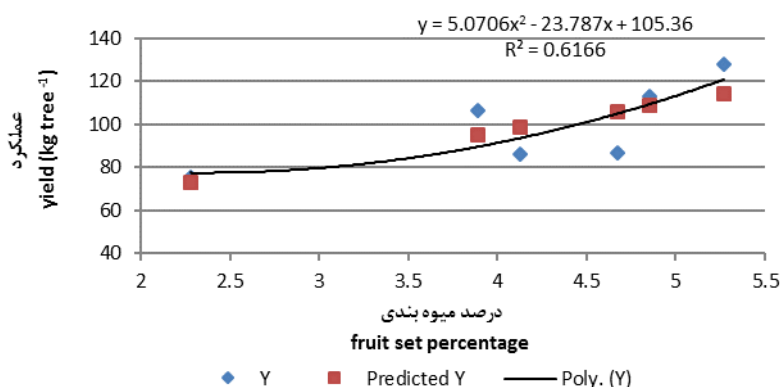
میانگین ها با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دلگن نمی باشند

Means with the same letters in every column has no significant differences based on Duncan's multiple test at 5 percent probability level.

شدند. کمترین میزان این نسبت مربوط به تیمار آبیاری کامل قطره ای دو طرفه بود. بیشترین اسیدیته آب میوه انار مربوط به تیمارهای آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه و آبیاری کامل قطره ای دو طرفه بود و کمترین میزان اسیدیته آب میوه انار متعلق به تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب بود. که این مسأله نشان دهنده اهمیت تناوب آبیاری بر کاهش اسیدیته آب میوه انار می باشد.

کیفیت رنگ دانه‌های انار رقم زرد انار (آریل) نقش مهمی در صادرات میوه انار داشته و در این آزمایش مشاهده گردید که بیشترین کیفیت رنگ دانه‌های انار با توجه به شاخص‌های Lab مربوط به تیمارهای آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب و آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی بود و کمترین کیفیت رنگ دانه‌های انار مربوط به تیمار آبیاری کامل قطره ای دو طرفه بود (جدول ۸). محاسبه و بررسی همبستگی و رگرسیونی بین صفات آزمایشی نشان داد که افزایش عملکرد ارتباط معنی‌دار با افزایش درصد میوه بندی در انار داشت ( $r=0.744$ ) (شکل ۱). همچنین افزایش کارایی مصرف آب همزمان با افزایش درصد میوه بندی و عملکرد و نیز کاهش مصرف آب، ارتباط معنی‌دار با صفات کیفی از جمله کاهش زمان رسیدن میوه، کاهش قطر میوه، افزایش درصد ترک خوردگی پوست، بهبود کیفیت رنگ میوه، افزایش کل مواد جامد قابل حل، کاهش اسید، افزایش کل مواد قابل حل به اسید و بهبود کیفیت رنگ دانه داشت. همچنین با افزایش ضخامت پوست میوه درصد ترک خوردگی پوست انار به طور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۹).

آن‌ها بیان کردند که در این رابطه مهمترین دلیل کنترل بهتر رشد رویشی نسبت به رشد زایشی می باشد. در این صورت در اثر کاهش آبیاری بیوماس کل کم می‌شود اما به دلیل بهبود شاخص برداشت، عملکرد اقتصادی کم نمی‌شود. در آزمایش ما دو تیمار آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب و آبیاری قطره‌های متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی از وضعیت بهتری برخوردار بودند. بیشترین میزان کل مواد جامد قابل حل آب میوه انار مربوط به تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی بود که به ترتیب موجب افزایش این صفت نسبت به تیمار شاهد به میزان ۲۰/۵۱ و ۱۸/۰۱ درصد شدند. پس از آن دو تیمار آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب در گروه دوم آماری قرار داشتند و موجب افزایش ۱۶/۴۱ و ۱۵/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد شدند. بیشترین میزان اسیدیته آب میوه انار مربوط به تیمار شاهد یعنی آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه و تیمار آبیاری کامل قطره ای دو طرفه با میزان ۰/۸۶ و ۰/۷۷ درصد بود. کمترین میزان اسید کل آب میوه مربوط به تیمار آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی به میزان ۰/۵۲ درصد بود (جدول ۸). بیشترین میزان نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید آب میوه انار مربوط به تیمار آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی بود که موجب افزایش ۹۵/۳۴ درصدی آن نسبت به تیمار شاهد شد. پس از آن تیمارهای آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی و آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب قرار داشتند که به ترتیب موجب افزایش ۶۱/۹۴ و ۵۲/۹۹ درصدی نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید آب میوه انار



شکل ۱- برازش رگرسیونی بین صفات عملکرد و درصد میوه بندی انار رقم زرد انار

Figure 1- Regression trend between yield and fruit set percentage of pomegranate cv. Zarde-anar

جدول ۷ - تجزیه واریانس مرکب و میانگین مربعات صفات کمی و کیفی اندازه گیری شده در انار رقم زرد انار تحت تیمارهای کم آبیاری موضعی ریشه  
 Table 7- Compound means square analysis of measured quantitative and qualitative characteristics of Zard-anar pomegranate under root alternate deficit irrigation treatments

| منابع تغییر<br>Source of variation            | درجه آزادی<br>Degree of freedom | کیفیت رنگ<br>رنگ - سبزی پوست<br>میوه<br>Fruit Green-Red<br>(a) | رنگ قرمز - سبزی<br>دانه<br>Aril Green-Red<br>(a) | رنگ آبی - زرد<br>دانه<br>Aril Blue-<br>Yellow<br>(b) | کل مواد جامد قابل<br>حل<br>Total Soluble<br>Solid<br>(%) | اسید کل<br>Total<br>Acid<br>(%) | نسبت کل مواد جامد قابل حل به<br>اسید<br>TSS/TA | اسیدیته<br>pH |
|---|---------------------------------|--|--|--|--|---------------------------------|--|---------------|
| سال<br>Year                                   | 4                               | 0.0314 ns  | 63.5 ns  | 0.001 ns   | 9925.32**  | 0.052 ns                        | 0.365 ns                                       | 14.64 ns      |
| خطا<br>Error                                  | 8                               | 0.174  | 42.28 ns   | 0.072  | 2124.247   | 0.0465                          | 0.445  | 13.31         |
| تیمار<br>Treatment                            | 5                               | 0.665**  | 241.34**   | 6.861**  | 6451.01**  | 0.925**                         | 0.897**  | 345.16**      |
| سال × تیمار<br>Year * Treatment               | 20                              | 0.0417 ns  | 145.64 ns  | 0.082 ns   | 254.41 ns  | 0.45 **                         | 0.151 **                                       | 54.12 ns      |
| خطا<br>Error                                  | 25                              | 0.1317   | 134.71   | 0.061  | 4655.45  | 0.064                           | 0.042  | 132.504       |
| ضریب تغییر<br>Coefficient of variation<br>(%) |                                 | 7.55%  | 6.80%  | 8.32%  | 5.90%  | 5.10%                           | 6.40%  | 5.20%         |

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد آماری ns از نظر آماری عدم معنی دار  
 \*, \*\* significant at 5 and 1 statistical levels respectively ns non-significant

جدول ۸- اثر تیمارهای کم آبیاری موضعی ریشه بر برخی صفات اندازه گیری شده میوه انار رقم زرد انار  
Table 8- The effect of root alternate deficit irrigation treatments on measured parameters of Zard-anar pomegranat

| تیمارهای آزمایشی<br>Experimental treatments   | رنگ میوه<br>Fruit color<br>(Lab index) | کل مواد جامد قابل حل<br>Total soluble solids | اسید کل<br>Total acid | نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید<br>TSS/TA | اسیدیته<br>pH | رنگ دانه<br>Aril color<br>(a index) |
|---|--|--|-----------------------|---|---------------|-------------------------------------|
| آبیاری کامل غرقابی عرف منطقه (با توجه به نیاز آبی گیاه)<br>(Alternate partial root-zone irrigation) | T1                                     | 13.65d                                       | 0.86a                 | 15.87e                                      | 2.26d         | 68.00c                              |
| آبیاری غرقابی با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب (irrigation)                                   | T2                                     | 15.78b                                       | 0.65c                 | 24.28b                                      | 3.89ab        | 75.60a                              |
| آبیاری غرقابی با ۵۰ درصد نیاز آبی (Regular deficit irrigation)                                      | T3                                     | 15.89b                                       | 0.74b                 | 21.47cd                                     | 3.02c         | 72.30b                              |
| آبیاری کامل قطره ای دو طرفه (با توجه به نیاز آبی گیاه)  | T4                                     | 14.84c                                       | 0.77ab                | 19.27d                                      | 2.64cd        | 63.54d                              |
| آبیاری قطره ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی (Alternate partial root-zone drip irrigation)            | T5                                     | 16.45a                                       | 0.64c                 | 25.70b                                      | 3.97a         | 74.40ab                             |
| آبیاری قطره ای با ۵۰ درصد نیاز آبی (Regular deficit drip irrigation)                                | T6                                     | 16.12ab                                      | 0.52d                 | 31.00a                                      | 3.61b         | 71.50bc                             |

میانگین ها با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن نمی باشند  
Means with the same letters in every column has no significant differences based on Duncan's multiple test at 5 percent probability level.

جدول ۹- ضرایب همبستگی محاسبه شده بین صفات اندازه گیری شده انار رقم زرد انار تحت تیمارهای کم آبیاری موضعی ریشه  
Table 9- Calculated correlation coefficient between measured characteristics of pomegranate cv. Zarde-anar under root alternate deficit irrigation treatments

| صفات آزمایشی<br>Experimental traits               | عملکرد<br>Fruit Production | کارایی مصرف<br>آب<br>WUE | درصد میوه<br>بندی<br>Fruit set | میانگین زمان<br>رسیدن میوه<br>Mean of fruit<br>ripening | ضخامت<br>پوست<br>Peel thickness | درصد ترک<br>خوردگی پوست<br>Peel<br>cracking | رنگ میوه<br>Fruit<br>color | کل مواد جامد قابل<br>حل<br>Total soluble<br>solids | اسید کل<br>Total acid | نسبت کل مواد<br>جامد قابل حل<br>به اسید<br>TSS/TA | اسیدیته<br>pH |
|---|----------------------------|--------------------------|--------------------------------|---|---------------------------------|---|----------------------------|--|-----------------------|---|---------------|
| عملکرد<br>Fruit Production                        | 1.000                      |                          |                                |   |                                 |   |                            |  |                       |   |               |
| کارایی مصرف آب<br>WUE                             | 0.708**                    | 1.000                    |                                |   |                                 |   |                            |  |                       |   |               |
| درصد میوه بندی<br>Fruit set                       | 0.744**                    | 0.985**                  | 1.000                          |   |                                 |   |                            |  |                       |   |               |
| میانگین زمان رسیدن میوه<br>Mean of fruit ripening | -0.414                     | -0.705**                 | -0.796**                       | 1.000   |                                 |   |                            |  |                       |   |               |
| قطر میوه<br>Fruit diameter                        | -0.357                     | -0.901**                 | -0.880**                       | 0.765**   | 1.000                           |   |                            |  |                       |   |               |
| وزن میوه<br>Fruit weight                          | 0.192                      | -0.527                   | -0.441                         | 0.347   | 0.786**                         | 1.000                                       |                            |  |                       |   |               |
| ضخامت پوست<br>Peel thickness                      | 0.108                      | -0.576                   | -0.466                         | 0.254   | 0.754**                         | 0.947**                                     | 1.000                      |  |                       |   |               |
| درصد ترک خوردگی پوست<br>Peel cracking             | 0.070                      | 0.721**                  | 0.622*                         | -0.372  | -0.862**                        | -0.936**                                    | -0.975**                   | 1.000  |                       |   |               |
| رنگ میوه<br>Fruit color                           | 0.568                      | 0.927**                  | 0.917**                        | -0.724**  | -0.852**                        | -0.563                                      | -0.643*                    | 0.724**  | 1.000                 |   |               |
| کل مواد جامد قابل حل<br>Total soluble solids      | 0.557                      | 0.965**                  | 0.954**                        | -0.765**  | -0.973**                        | -0.658*                                     | -0.637*                    | 0.780**  | 0.871**               | 1.000   |               |
| اسید کل<br>Total acid                             | -0.333                     | -0.762**                 | -0.819**                       | 0.960**   | 0.859**                         | 0.562                                       | 0.479                      | -0.567   | -0.825**              | -0.829**  | 1.000         |
| نسبت کل مواد جامد قابل حل<br>به اسید<br>TSS/TA    | 0.293                      | 0.747**                  | 0.802**                        | -0.954**  | -0.872**                        | -0.598                                      | -0.492                     | 0.583  | 0.791**               | 0.836**   | -0.996**      |
| اسیدیته<br>pH                                     | 0.350                      | 0.683*                   | 0.631*                         | -0.355  | -0.662*                         | -0.682*                                     | -0.646*                    | 0.690*   | 0.718**               | 0.684*  | -0.558        |
|   |                            |                          |                                |   |                                 |   |                            |  |                       |   | 0.559         |

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد آماری  
\* , \*\* significant at 5 and 1 statistical levels respectively

## نتیجه گیری کلی

با ۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه بصورت متناوب و آبیاری قطره‌ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی، بودند. اگرچه از نظر کیفیت پوست، کاهش میزان آب آبیاری موجب افزایش درصد ترک خوردگی و کاهش ضخامت پوست انار گردید، اما به دلیل جزئی بودن این میزان در مقایسه با افزایش عملکرد و کارایی مصرف آب می‌توان از آن صرف نظر نمود. از طرف دیگر افزایش کارایی مصرف آب همزمان با افزایش درصد میوه بندی و عملکرد و نیز کاهش مصرف آب، ارتباط معنی‌دار با صفات کیفی داشت، چنانکه کیفیت داخلی میوه از جمله رنگ میوه، کل مواد جامد قابل حل، اسید کل، نسبت کل مواد جامد قابل حل به اسید، اسیدیته و رنگ دانه با کاهش میزان آب مصرفی بهبود یافت. نتایج آزمایش نشان داد که از نظر مدیریت آبیاری بهترین تیمار کاربرد آبیاری قطره‌ای متناوب با ۱۰۰ درصد نیاز آبی برای درخت انار رقم زرد انار بود، و کاربرد این تیمار از این نظر برای منطقه توصیه می‌گردد.

توجه گسترده‌ای به کاربرد سیستم‌های کم آبیاری و آبیاری متناوب محیط ریشه برای افزایش کارایی مصرف آب در محصولات باغی شده است. این تکنیک‌ها اولین بار به منظور کاهش رشد شاخساره و افزایش ورود نور به تاج درخت مورد استفاده قرار گرفت. این در حالی بود که عملکرد و کیفیت میوه دستخوش تغییر نشد و در بعضی موارد افزایش نشان داد. نتایج آزمایش ما نشان داد که آبیاری متناوب منطقه ریشه در حالی که موجب کاهش قابل توجه مصرف آب آبیاری شده منجر به کاهش معنی‌دار عملکرد نشد. از آنجایی که کاربرد تناوب آبیاری موجب تغییرات ساختاری و مورفولوژیکی ریشه و توانمندی آن در نفوذ و جذب آب می‌گردد، توصیه می‌گردد تا الگوی این تغییرات با توجه به نوع تیمارهای آزمایش مورد بررسی قرار گیرد. با توجه به نتایج آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که بهترین تیمارها از نظر افزایش عملکرد و کارایی مصرف آب آبیاری غرقابی

## منابع

- 1- Abrisqueta J.M., Mounzer O., Alvarez S., Conejero, W., Garcia-Orellana Y., Tapia L.M., Vera J., Abrisqueta I., and Ruiz-Sanchez M.C. 2008. Root dynamics of peach trees submitted to partial root zone drying and continuous deficit irrigation. *Agricultural Water Management*. 95, 959–967.
- 2- Ahmadi S.H., Andersen M.N., Plauborg F., Poulsen R.T., Jensen C.R., Sepaskhah A.R., and Hansen S. 2010. Effects of irrigation strategies and soils on field grown potatoes: gas exchange and xylem [ABA]. *Agricultural Water Management*. 97, 1486–1494.
- 3- Ahyaee, M., and Behbahanizadeh A.A. 1993. Soil chemical analysis methods. Technical Bul. 893, First edition, Soil and Water institute, Tehran, Iran.
- 4- Aseri G.K., Jain N., Panwar J., Rao A.V., and Meghwal P.R. 2008. Bio fertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, and metabolism and rhizosphere enzyme activities of pomegranate (*Punicagranatum L.*) in Indian Thar Desert. *Scientia of Horticulture*. 117(2), 130–135.
- 5- Bonfil D.J., Mufradi I., Klitman S., and Asido S. 1999. Wheat grain yield and soil profile water distribution in a no-till arid environment. *Agriculture journal*. 91:3, 368–373.
- 6- Chikaizumi S. 2007. Studies on Causal Factors and Preventive Measures of Rind Disorders in Citrus Fruits. 2008. University of California. Agriculture and Natural Resources, <http://anrcatalog.ucdavis.edu>.
- 7- Costantini E., Landi L., Silvestroni O., Pandolfini T., Spena A., and Mezzetti B. 2007. Auxin Synthesis-Encoding Transgene Enhances Grape Fecundity. *Plant Physiology*. 143 (4): 1689–1694.
- 8- Du T., Kang S., Zhang J., Li F., and Hu X. 2006. Yield and physiological responses of cotton to partial root-zone irrigation in the oasis field of northwest China. *Agricultural water management*. 84: 41 – 52.
- 9- Gong D., Kang S., Tong L., and Ding R. 2004. Effects of root-divided alternative irrigation on soil moisture distribution and root–trunk sap flow dynamics of peach trees. *Journal of Hydraulic Engineering*. 35(10), 120–127 (in Chinese with English abstract).
- 10- Grimes D.W., Walhood V.T., and Dickens W.L. 1968. Alternate furrow irrigation for San Joaquin valley cotton. *California Agricultural*. 22 (5), 4–6.
- 11- Gu S.L., David Z., Simon G., and Greg J. 2000. Effect of Partial Root zone drying on Vine Water Relations, Vegetative Growth, Mineral Nutrition, Yield and Fruit Quality in Field-Grown Mature Sauvignon Blanc Grapevines. Research Notes, #000702. California Agricultural Technology Institute, California State University, Fresno.
- 12- Hutton R.J., and Loveys B.R. 2011. A partial root zone drying irrigation strategy for citrus effects on water use efficiency and fruit characteristics. *Agricultural Water Management*. 98, 1485–1496.
- 13- Kang S., and Zhang J. 2004. Controlled alternate partial root-zone irrigation: its physiological consequences and impact on water use efficiency. *Journal of Experimental Botany*. 55 (407), 2437–2446.
- 14- Kirda C., Cetin M., Dasgan Y., Topcu S., Kaman H., Ekici B., Derici M.R., and Ozguven A.I. 2004. Yield



- response of greenhouse grown tomato to partial root drying and conventional deficit irrigation. *Agricultural Water Management*. 69, 191–201.
- 15- Kouchaki E., and Nasiri-Mahalati M. 1992. Ecology of field crops. Jahade-Daneshgahi Mashhad (in: Farsi).
  - 16- Lehmann J. 2003. Subsoil root activity in tree-based cropping systems. *Plant and Soil* 225, 319–331.
  - 17- Loveys B.R., Grant J., Dry P.R., and McCarthy M.G. 1997. Progress in the development of partial root-zone drying. *Australian journal of Grape and Wine*. 403: 18-20.
  - 18- Loveys B.R., Stoll M., and Davies W.J. 2004. Physiological approaches enhance water use efficiency in agriculture: exploiting plant signaling in novel irrigation practice. In: Bacon MA, ed. *WUE Plant bio*. Oxford: Blackwell Publishing, 113-141.
  - 19- Loveys B.R. 2000. Using irrigation management to improve the water use efficiency of horticultural crops. *Land Management*. 1 (3), 31–33.
  - 20- Arpaia Lu M., and Lund L.J. 2006. Nitrogen Management in Citrus under Low-Volume Irrigation. Dept. of Botany and Plant Science, UC Riverside.
  - 21- Mars M. 1996. Pomegranate genetic resources in the Mediterranean region. In: Proc. First Mesfin Plant Genet. Res. Meeting, Tenerife, Spain, 2-4 Oct. 1995, pp. 345-354.
  - 22- Parvizi H., Sepaskhah A.R., and Ahmadi S.H. 2014. Effect of drip irrigation and fertilizer regimes on fruit yields and water productivity of a pomegranate (*Punicagranatum* (L.) cv. Rabab) orchard. *Agricultural Water Management*. 146, 45–56.
  - 23- Platt R.G. 2001. Split in navel oranges. University of California Agricultural extension, ANR Associate Editors for Environment Horticulture.
  - 24- Shahabian M., Samar S.M., Talaie A., and Emdad M.R. 2012. Response of orange trees to deficit irrigation strategies in the north of Iran. *Agronomy. Soil Science*. 58 (3), 267–276.
  - 25- Sokalska D.I., Haman D.Z., Szewczuk A., Sobota J., and Deren D. 2009. Spatial root distribution of mature apple trees under drip irrigation system. *Agricultural Water Management*. 96: 917–924.
  - 26- Tous J., and Ferguson L. 1996. Mediterranean fruits. In: Janick J, editor. *Progress in new crops*, 416–430. ASHS Press.
  - 27- Unknown, 2001. Available on line at <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8038.pdf>.
  - 28- Wagdy Y.S., Dodd I.C., Bacon M.A., Grierson D., and Davies W.J. 2004. Long-distance signals regulating stomata conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root-zone drying. *Journal of Experimental Botany*. 55 (407), 2353–2363.
  - 29- Zegbe J.A., Behboudian M.H., and Clothier B.E. 2004. Partial root zone drying is a feasible option for irrigating processing tomatoes. *Agricultural Water Management*. 68, 195–206.



## Survey the Effects of Partial Root Zone Deficit Irrigation and Deficit Irrigation on Quantitative, Qualitative and Water Use Efficiency of Pomegranate

M. S.Tadayon<sup>\*1</sup> - G.Moafpourian<sup>2</sup>

Received: 22-02-2015

Accepted: 02-08-2016

**Introduction:** One of the latest efficient methods on increment of water use efficiency that confirmed by many scientists all over the world is deficit and alternative partial root zone deficit irrigation. In this experiment the effect of deficit and alternative partial root zone deficit irrigation on fruit yield, quality and water use efficiency of pomegranate (*Punicagranatum* (L.) cv. Zarde-anar) were investigated in Arsenjan semi-arid region.

**Materials and Methods:** The experiment was carried out in a constant plots and randomized complete block design (RCBD) with four replications in five years. Treatments were 1- full flood irrigation (100 percent crop water requirement) (T1) 2- flood irrigation with 100 percent crop water requirement as alternate partial root-zone irrigation (every irrigation conducted on one side of tree) (T2) 3- flood irrigation with 50 percent crop water requirement as regular deficit irrigation (T3) 4- full two-side drip irrigation (with regard to crop water requirement) (eight drippers with two lit/hour flow by two different individual networks) (T4) 5- alternate partial root-zone drip irrigation with 100 percent crop water requirement (T5) 6- regular deficit drip irrigation with 50 percent crop water requirement (T6) in every irrigation period. Each experimental treatment includes four trees and 96 similar twelve years old trees overall. Cultivation practice was conducted similarly on all of the trees.

**Results and Discussion:** Results showed that the highest yield and water use efficiency based on statistical analysis belong to both PRD treatments i.e. alternate partial root-zone drip irrigation with 100 percent crop water requirement and alternate partial root-zone flood irrigation with 100 percent crop water requirement, respectively, that both of them decreased water requirement for irrigation up to 35 and 50 percent in comparison to control. Application of partial root drying irrigation on both traditional flood irrigation and drip irrigation, in comparison to deficit irrigation, caused a significant increment of water use efficiency up to 78.34 and 71.4 percent than control in pomegranate trees, respectively. Reduction of water consumption caused a significant increase on pomegranate fruit set and there was a significant positive correlation between pomegranate yield and fruit set percentage. Increment of water use efficiency, fruit set percentage and yield had significant effects on fruit quality such as aril color, total soluble solid, total acid, TSS/TA and fruits peel color, so that, with decrease in water consumption, these traits were improved. Reducing water consumption caused an induction in reproductive characteristics, meanwhile reduced vegetative growth that is dominated in pomegranate trees. Under partial root drying irrigation and deficit irrigation on both traditional flood irrigation and drip irrigation, due to the differentiation in root morphology and structure by positive hydrotropism, increment of water absorption and use efficiency could be improved in consequence. Decreasing amount of water in irrigation had significant effect on fruit quality. Fruit peel thickness and cracking had significant relationship with each other and fruit cracking has affected by deficit irrigation. The highest total soluble solid to acid of fruit juice belong to regular deficit drip irrigation with 50 percent crop water requirement that caused an increment of 95.34 in comparison to control. After that, alternate partial root-zone drip irrigation with 100 percent crop water requirement and flood irrigation with 100 percent crop water requirement as alternate partial root-zone irrigation caused an increment in total soluble solid to acid ratio of fruit juice with 61.94 and 52.99 percent. The highest amount of TSS in pomegranate fruit juice belong to alternate partial root-zone drip irrigation with 100 and 50 percent crop water requirement with 20.51 and 18.01 percent increment than control treatment, respectively. Maximum amount of acidity in fruit juice belongs to full flood irrigation with 100 percent crop water requirement (control) and the minimum amount of that belong to regular deficit drip irrigation with 50 percent crop water requirement.

**Conclusions:** with regard to the irrigation management, the best applicable treatment for pomegranate cultivar Zarde-anar was alternate partial root-zone drip irrigation with 100 percent crop water requirement that could be recommended for the Arsenjan and same climate region. After that in the second place the alternative

1- Assistant Professor of Soil and Water Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran

(\*-Corresponding Author Email: m.tadayon@areeo.ac.ir)

2- Assistant Professor of Soil and Water Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran

treatment were flood irrigation with 100 percent crop water requirement as alternate partial root-zone irrigation and followed with flood irrigation with 50 percent crop water requirement as regular deficit irrigation, respectively.

**Keywords:** Alternate irrigation, Fruit quality, Pomegranate, Root drying



## بهبودسازی اندام‌زایی غیرمستقیم گیاه آنتوریوم (*Anthurium scherzerianum*)

احمد نوروزی<sup>۱</sup> - عبدالرضا باقری<sup>۲\*</sup> - نسرین مشتاقی<sup>۳</sup> - احمد شریفی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴

### چکیده

آنتوریوم گلدانی (*Anthurium scherzerianum*) یک گیاه زینتی چند ساله است که به دلیل مشکلات تکثیر سنتی در این گیاه، از کشت بافت به عنوان روشی مناسب برای تکثیر سریع و حذف بیماری‌های آن نام برده می‌شود. در این پژوهش اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و نوع ریزنمونه بر روی باززایی غیرمستقیم *A. scherzerianum* مورد بررسی قرار گرفت. به منظور القای کالوس در ریزنمونه‌های برگ و دم‌برگ آنتوریوم اثر سطوح مختلف تنظیم کننده‌های رشد BA و TDZ (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) در ترکیب با NAA یا 2,4-D (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط کشت پایه MS در شرایط تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. برای القای باززایی در کالوس‌های تولید شده اثر سطوح پایین تر سایتوکینین‌ها و اکسین‌ها در محیط کشت پایه MS بررسی شد. برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های، از محیط کشت  $1/2 MS$  حاوی ترکیبات هورمونی IBA و IAA استفاده شد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که ریزنمونه دم‌برگ بیشترین کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس را در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D تولید کرد. همچنین نتایج آزمایش باززایی نشان داد که در ترکیب هورمونی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بیشترین تعداد شاخساره (۶/۹)، طول شاخساره (۵ سانتی متر) تولید شد. در آزمایش ریشه‌زایی نیز بیشترین درصد ریشه‌زایی (۹۵ درصد)، تعداد ریشه (۴/۵) و طول ریشه (۳/۵ سانتی متر) در محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد. در نهایت گیاهچه‌های ریشه دار شده، برای سازگاری با شرایط برون شیشه‌ای در بستر کوکوپیت و پرلیت (۲:۱) ۹۰ درصد سازگار شدند.

**واژه‌های کلیدی:** باززایی، تنظیم کننده‌های رشد، ریشه‌زایی، کالوس، کشت بافت

### مقدمه

یا سه برگ و ریشه‌دار کردن آن‌ها در شرایط مه‌افشان می‌باشد. راندمان تولید در این روش پایین است و سالانه حداکثر ۸ گیاه از یک گیاه مادری قابل تولید است. همچنین تکثیر از طریق بذر موجب تفرق صفات در نتاج گردیده و گیاهان حاصل نیز برای به گل رفتن به سه سال وقت نیاز دارند. بواسطه اینکه برای تولید تجاری و صادرات، زمان رسیدن و یکنواختی تولید و همچنین تولید گیاهانی با ساختار ژنتیکی یکسان اهمیت ویژه‌ای دارد؛ از این‌رو استفاده از روش‌های کشت بافت گیاهی و یا ریزازدیادی آنتوریوم بهترین راه برای دستیابی به اهداف فوق است و کاهش هزینه‌های تولید و امکان تولید مداوم و سریع را نیز در پی خواهد داشت (۳).

تکثیر آنتوریوم از طریق کشت بافت نخست در سال ۱۹۷۴ توسط پیریک و همکارانش انجام شد. حمیده و همکاران (۱۰) در تحقیقی دیگر نشان دادند که جنین‌زایی سوماتیکی در گیاه *A. scherzerianum* را می‌توان از طریق کشت بافت ریزنمونه برگ در محیط کشت MS حاوی 2,4-D و kin انجام داد. با این حال اطلاعات اندکی در مورد کشت بافت این گیاه وجود دارد. ژنوتیپ و رقم از مهم‌ترین عوامل موثر در کشت بافت آنتوریوم است که در

گیاه آنتوریوم گلدان (*Anthurium scherzerianum*) از مهمترین گونه‌های جنس آنتوریوم است که به جهت دارا بودن گل‌های بسیار زیبا و جذاب با طول عمر مفید، موارد استفاده زیادی دارد (۱۳). در این خانواده ۱۰۸ جنس و ۳۷۵۰ گونه رونده و علفی شناخته شده است (۱۱ و ۲۵). اهمیت و جایگاه گل آنتوریوم در میان گیاهان زینتی به لحاظ قیمت بالای آن در حدی است که لزوم استفاده از روش‌های نوین جهت نیل به اهداف اقتصادی را ایجاب می‌کند. روش سنتی افزایش آنتوریوم از طریق تقسیم بوته پاجوش‌های کوچک اطراف گیاه مادری و انتقال قلمه‌های انتهایی دو

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار گروه بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- عضو هیأت علمی گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی مشهد  
(\* - نویسنده مسئول: bagheriyazd@gmail.com (Email:))

DOI: 10.22067/jhorts4.v31i2.52890

نمونه‌های برگ، دم‌برگ، اسپاد و اسپادیکس گیاه شاداب در حال رشد فعال استفاده شد. ریز نمونه‌های مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در زیر آب جاری و چند قطره مایع شوینده رایج شستشو داده شدند. سپس برای ضد عفونی ریزنمونه‌ها به محلول حاوی ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم و چند قطره توین ۲۰ برای مدت ۱۵ دقیقه منتقل شد. ریزنمونه‌ها در شرایط استریل در زیر هود لامینار ۳ مرتبه در دوره زمانی ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. سپس ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ترکیب هورمونی مختلف شامل ترکیب BA (۱/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) همراه با 2,4-D یا NAA (۱/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) یا ترکیب TDZ (۱/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر)، همراه با 2,4-D (۱/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر)، ۳ درصد ساکارز و ۰/۷ درصد آگار با pH معادل ۵/۷ به منظور بررسی اثر نوع ریزنمونه، ترکیب هورمونی محیط کشت بر کالوس‌زایی کشت شدند. ریزنمونه‌ها در تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاق کشت نگهداری شدند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه عامل نوع ریزنمونه، نوع تنظیم کننده رشد و سطوح مختلف تنظیم کننده رشد در ۱۲ تکرار انجام شد.

به منظور باززایی ریزنمونه‌های کالوس‌زا، ریزنمونه‌ها به محیط کشت MS حاوی ترکیبات هورمونی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ در ترکیب با ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ منتقل شدند. ریزنمونه‌های کشت شده در اتاق رشد با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۲ عامل نوع ریزنمونه و نوع تنظیم کننده رشد در ۶ تکرار انجام شد.

به منظور ریشه‌زایی، گیاهچه‌های باززایی شده که دارای ارتفاع تقریباً ۲ سانتی‌متر و حداقل ۳ برگ بودند به محیط کشت  $1/2$  MS حاوی ترکیبات مختلف تنظیم کننده‌های رشد IBA یا IAA (۰/۲) و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و بدون هورمون و با ۳ درصد ساکارز و ۰/۷ درصد آگار منتقل شدند. pH محیط نیز روی ۵/۷ تنظیم شد. همچنین گیاهچه‌های کشت شده در اتاق رشد در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. این بررسی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار انجام شد. در مرحله سازگاری بسترهای مختلف کشت، کوکوپیت و پرلیت (۱:۱)، ورمی کولیت، پیت ماس و پرلیت (۲:۱) و ورمی کولیت و پرلیت (۱:۱) بررسی شد.

داده‌های حاصل از کلیه طرح‌های مورد استفاده در این پژوهش با نرم افزار آماری SAS تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از

مطالعات مختلف به این عامل توجه زیادی شده است. طی تحقیقی که اتاک و سیلیک (۱) بر روی ریزازدیادی دو رقم آنتوریوم انجام دادند، مشخص شد که در رقم آریزونا سرعت القای کالوس، سرعت باززایی و درصد ریشه‌زایی، نسبت به رقم سومی بیشتر بود. باززایی از قطعات برگ *A. scherzerianum* به شدت وابسته به ژنوتیپ و سن برگ است (۸). طی پژوهش‌های مختلف به غیر از ریزنمونه برگ برای باززایی غیرمستقیم آنتوریوم، نتایج بسیار خوبی از ریزنمونه‌های نوک ساقه، دم‌برگ و گره گزارش شده است (۱۶، ۲۵، ۲۶). در باززایی غیرمستقیم از محیط‌های کشت مختلفی چون MS، MMS، نیچ و WPM برای کالوس‌زایی و اندام‌زایی استفاده شده است (۱، ۱۶، ۲۰، ۲۵).

طی پژوهشی، تی چاتو (۲۴) اثر چهار محیط کشت MS، MMS، WPN و NN بر باززایی ریزنمونه‌های برگ و گره دو رقم مختلف از آنتوریوم را مورد بررسی قرار دادند و در نهایت محیط‌های MS و MMS بیشترین کالوس‌زایی و باززایی را داشتند. اتاک و سیلیک (۱) از محیط کشت MS حاوی ۰/۶ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA برای القای کالوس و از محیط کشت MS تغییر یافته در مقدار  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (مقدار آن به ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش یافته بود) و حاوی ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA برای باززایی اندام‌های هوایی و از محیط کشت MS با نصف غلظت نمک، ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA و ۰/۰۴ درصد زغال فعال برای ریشه‌زایی نمونه‌ها استفاده کردند. عطا الله و همکاران (۳) نیز ریشه‌زایی گیاهچه‌های آنتوریوم را در محیط کشت MS که حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بود با ۶۴ درصد موفقیت انجام دادند. گسترش روزافزون استفاده از این گیاه در جامعه شهری، واردات پایه‌های آن از خارج از کشور، اهمیت و نقش این گیاه و در اختیار نبودن روش مناسب برای تولید انبوه این پایه‌ها در شرایط این ویترو، انجام تحقیقات منسجم برای ریزازدیادی این گیاه را ضروری می‌سازد. با توجه به محدودیت تکثیر از طریق روش‌های سنتی و اهمیت گیاه آنتوریوم به عنوان یک گل زینتی، در این پژوهش سعی بر این بود تا کالوس‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی گیاه *A. scherzerianum* در شرایط درون شیشه‌ای مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد. همچنین تعیین بهترین محیط کشت کالوس‌زایی، باززایی، و تعیین سطوح مطلوب تنظیم کننده‌های رشد نیز می‌تواند گام موثری در جهت تولید انبوه این گیاه از طریق سیستم کشت بافت باشد.

## مواد و روش‌ها

برای اجرای تحقیق ۱۲ گلدان گیاه *A. scherzerianum* از بازار گل تهیه و در گلخانه تحقیقاتی جهاد دانشگاهی مشهد با شرایط محیطی و تغذیه مناسب نگهداری شدند. در این تحقیق از ریز

آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ارزیابی شد. داده‌های درصدی با استفاده از فرمول  $[\text{Arcsin}\sqrt{\frac{x}{100}}]$  قبل از تجزیه واریانس، تبدیل و تجزیه واریانس با داده‌های تبدیل شده انجام شد.

## نتایج و بحث

**کالوس‌زایی:** ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ کشت شده گیاه *A. scherzerianum* در ۲۴ ترکیب هورمونی کالوس‌زایی در نحوه‌ی القای کالوس واکنش متفاوتی از خود نشان دادند. آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که نوع ریزنمونه و ترکیب هورمونی بر روی درصد کالوس‌زایی، حجم کالوس و درصد زنده‌مانی معنی‌دار است. همچنین اثر متقابل نوع ریزنمونه و ترکیب هورمونی بر روی درصد کالوس‌زایی و درصد زنده‌مانی معنی‌دار بود. اثر نتایج مقایسه میانگین نشان داد که ریزنمونه دمبرگ درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس بیشتری نسبت به برگ دارد.

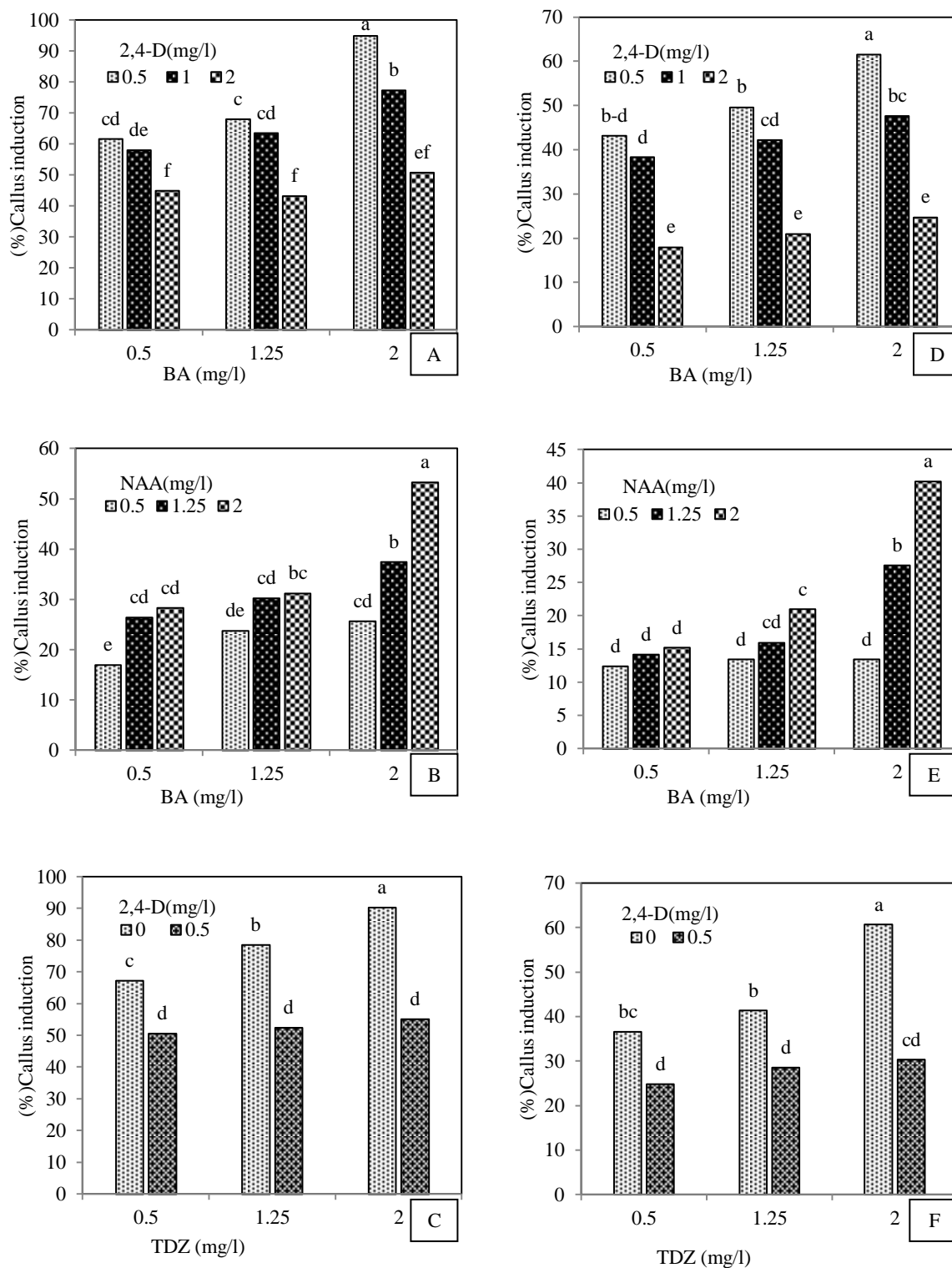
تی چاتو و همکاران (۲۴) گزارش کردند که در سه رقم (پلیو، سانیت و والتینو) ریزنمونه‌های میان‌گره رقم والتینو بیشتر از ریزنمونه‌های گره و برگ دیگر ارقام در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA کالوس‌زایی نشان می‌دهند. در تیمار سیتوکینین‌های BA و TDZ مورد بررسی، افزایش مقدار سیتوکینین موجود در محیط کشت از ۰/۵ به ۲ میلی‌گرم در لیتر، درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس افزایش و فاصله زمانی تا شروع کالوس‌زایی کاهش یافت. بررسی داده‌ها نشان داد ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، بیشترین درصد کالوس‌زایی و ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر TDZ کالوس‌ها در کمترین فاصله زمانی از کشت تولید شد. نتایج مشابه توسط چراغی و همکاران (۶) و یو-یی و همکاران (۲۷) نیز بدست آمد. چراغی و همکاران (۶) گزارش کردند که ریزنمونه‌های کشت شده گیاه *A. andreaum* در محیط کشت حاوی TDZ در فاصله زمانی کمتری BA و 2,4-D شروع به کالوس‌زایی کردند. در ضمن درصد پروتوکورم‌زایی در محیط کشت حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد BA خیلی بیشتر از TDZ بود.

نتایج بدست آمده نشان داد با افزایش BA از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به ۲ میلی‌گرم در لیتر، درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس تولید شده افزایش می‌یابد. در اکسین‌های 2,4-D و NAA مورد بررسی، افزایش آن از ۰/۵ به ۲ میلی‌گرم در لیتر، درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس کاهش و فاصله زمانی تا شروع کالوس‌زایی افزایش یافت، اما افزایش NAA از ۰/۵ به ۲ میلی‌گرم در لیتر، درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس

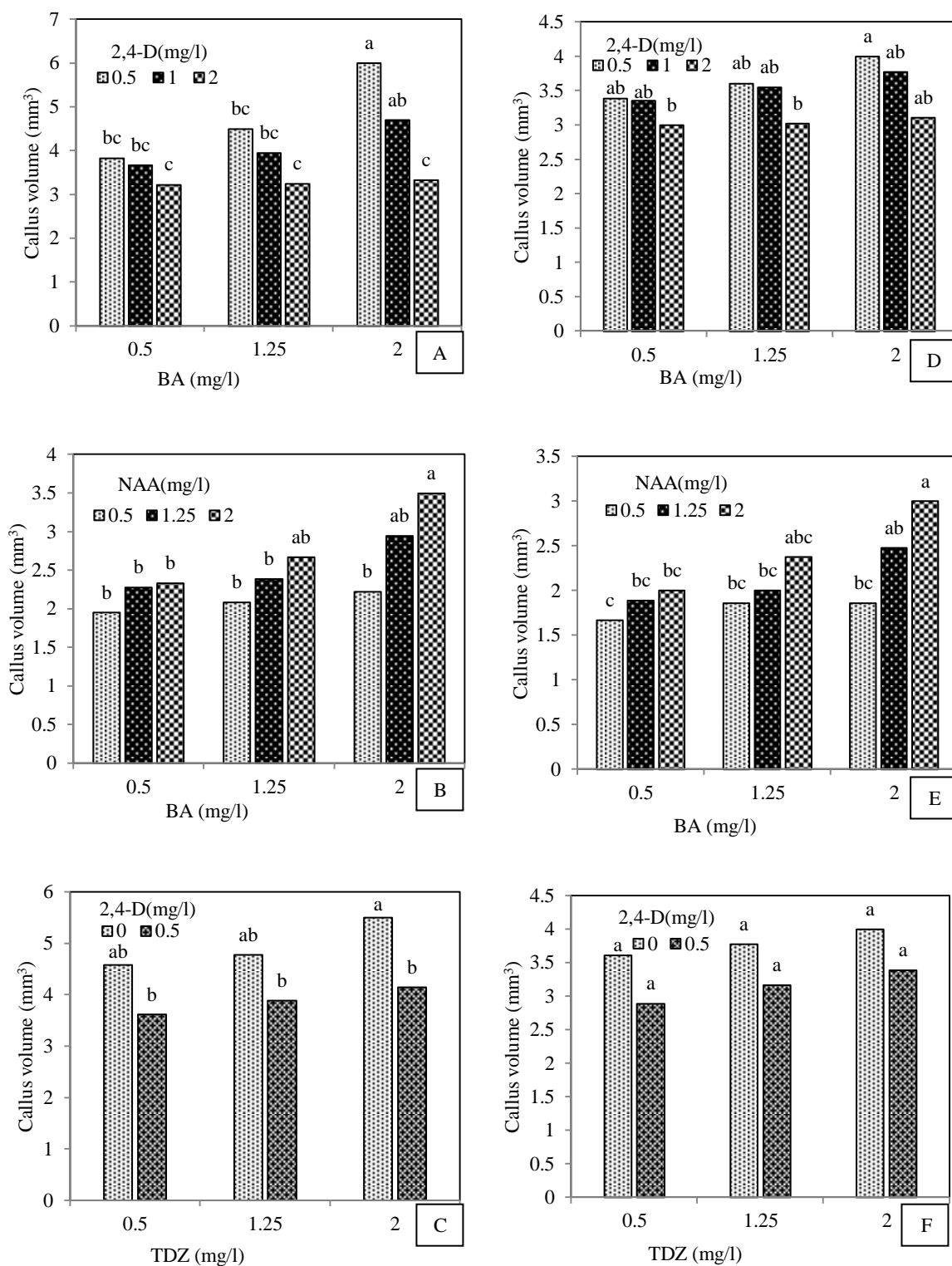
افزایش و فاصله زمانی تا شروع کالوس‌زایی در ریزنمونه برگ و دمبرگ کاهش یافت (شکل ۲ و ۳). همچنین افزایش غلظت 2,4-D در محیط کشت، قهوه‌ای شدن ریزنمونه و کالوس‌ها را به دنبال داشت. این نتیجه در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است (۶) و (۱۵). در خصوص 2,4-D به جز سطح ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر با افزایش 2,4-D از ۰/۵ به ۲ میلی‌گرم در لیتر، درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس تولیدی کاهش می‌یابد. همچنین به نظر می‌رسد هر گونه تغییر در سطوح BA تاثیر مثبت بیشتری بر کالوس‌زایی و حجم کالوس ریزنمونه‌ها نسبت به 2,4-D داشته باشد (شکل‌های ۱، ۲).

مقایسه میانگین داده‌های کالوس‌زایی نشان داد بیشترین کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس تولیدی در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. ریزنمونه‌های دمبرگ در این ترکیب هورمونی بیشترین درصد کالوس‌زایی (۹۵ درصد)، درصد زنده‌مانی (۹۶ درصد) و کالوس‌هایی به ابعاد ۶ میلی‌متر مکعب تولید کردند. همچنین ریزنمونه‌های برگ در همین ترکیب هورمونی بیشترین درصد کالوس‌زایی (۶۱ درصد)، درصد زنده‌مانی (۶۲ درصد) و حجم کالوس (۴ میلی‌متر مکعب) تولیدی را داشت. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج کوهنل و همکاران (۱۴)، جیو و همکاران (۹) و چراغی و همکاران (۶) مبنی بر برتری ریزنمونه‌های دمبرگ بر ریزنمونه‌های برگ در کالوس‌زایی و باززایی مطابقت داشت. جیو و همکاران (۹) گزارش کردند که ریزنمونه‌های دمبرگ در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بیشترین کالوس (۸۶ درصد) را تولید کردند. نتایج بررسی داده‌ها نشان داد ترکیبات هورمونی حاوی TDZ به تنهایی و TDZ در ترکیب با 2,4-D نسبت به ترکیبات هورمونی BA در ترکیب با NAA درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی، حجم کالوس و سرعت کالوس‌زایی بیشتری نشان دادند بطوری که محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA کمترین درصد کالوس (۱۲ درصد)، درصد زنده‌مانی (۱۲ درصد) و حجم کالوس (۱/۷ میلی‌متر مکعب) را در ریزنمونه برگ تولید کردند (شکل ۱ و ۲).

کهنل و همکاران (۱۵)، حمیده و همکاران (۱۰)، تنگ (۲۳)، بی‌جو و همکاران (۴)، یو و همکاران (۲۷) بیان کردند که کالوس‌زایی آنتوریوم تحت تاثیر ترکیب هورمونی محیط کشت قرار می‌گیرد و بسته به رقم و ریزنمونه سطح بهینه متفاوتی گزارش شده است، بطوری که بیشترین کالوس‌زایی در ترکیب هورمونی BA (۱، ۲، ۲/۵) و 2,4-D (۰/۲، ۰/۰۸، ۰/۲، ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر)، به دست آمده است. بر اساس نتایج داده‌ها، با کاهش غلظت TDZ از مقدار ۲ میلی‌گرم بر لیتر درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی و حجم کالوس تشکیل شده کاهش نشان داد (شکل ۱، ۲).



شکل ۱- اثر ترکیبات هورمونی محیط کشت بر درصد کالوس‌زایی در ریزنمونه‌های دم‌برگ (A, B, C) و برگ (D, E, F) گیاه آنتوریوم  
 Figure 1-Effect of plant growth regulators on callus induction in petiole (A, B, C) and leaves (D, E, F) explants of *Anthurium*



شکل ۲ - اثر ترکیبات هورمونی محیط کشت بر حجم کالوس در ریزنمونه دمبرگ (A, B, C) و برگ (D, E, F) گیاه آنتوریوم  
 Figure 2- Effects of plant growth regulators on callus volume in petiole (A, B, C) and leaves (D, E, F) explants of *Anthurium*



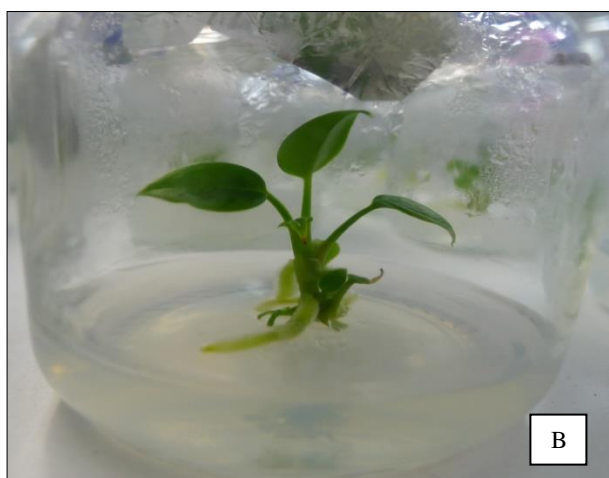
طول برگ (۲/۷ میلی متر) را تولید کرد (جدول ۱). نتایج بدست آمده با نتایج چراغی و همکاران (۶) مطابقت داشت. آنها گزارش کردند ریزنمونه‌های دمبرگ نسبت به ریزنمونه‌های برگ گیاه *A. andraeanum* نتیجه بهتری در باززایی نشان دادند. با این وجود پروتوکورم‌های تولید شده در محیط کشت‌های حاوی TDZ در زمان کم‌تر شروع به باززایی نمودند. در پژوهش‌های مختلف جیو و همکاران (۹)، تانگ و همکاران (۲۳)، بی جوی و همکاران (۴)، جهان و همکاران (۱۲) و سیلیک و اتاک (۱) بیشترین باززایی را به ترتیب در ترکیب هورمونی BA (۲، ۱، ۱، ۲/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۲/۰، ۰/۸، ۰/۵، ۰/۲ و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر)، گزارش کردند.

**ریشه‌زایی:** نتایج جدول تجزیه واریانس اثر غلظت ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی نشان داد که از لحاظ درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و طول ریشه و اثر نوع ترکیب هورمونی بر تعداد ریشه و طول ریشه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. اثر نوع ترکیب هورمونی بر درصد ریشه‌زایی معنی‌دار نبود. همچنین نتایج جدول تجزیه واریانس اثر متقابل غلظت ترکیب هورمونی و نوع ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی نشان داد که از لحاظ درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و طول ریشه وجود ندارد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد غلظت پایین اکسین‌ها (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) اثر بهتری نسبت به سطوح بالای آنها (۱ میلی‌گرم در لیتر) بر ریشه‌زایی دارد بطوری که بیشترین درصد ریشه‌زایی (۹۵)، تعداد ریشه (۴/۵) و طول ریشه (۳/۵ سانتی‌متر) تولیدی در محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و کمترین درصد ریشه‌زایی (۲۸)، تعداد ریشه (۰/۸) و طول ریشه (۰/۷ سانتی-متر) در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل ۴).

ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ کشت شده در ترکیب هورمونی حاوی TDZ (۰/۵، ۰/۲۵، ۲) از نظر صفات درصد کالوس‌زایی، درصد زنده‌مانی، حجم کالوس و سرعت کالوس نتایج بهتری نسبت به ترکیب‌های هورمونی حاوی TDZ در ترکیب با 2,4-D نشان دادند (شکل‌های ۱، ۲). بررسی نتایج سایر محققان نیز نشان می‌دهد که برای القای کالوس‌زایی در ریزنمونه‌های کشت شده ارقام مختلف آنتوریوم از ترکیبات هورمونی مختلفی استفاده شده است (۴، ۱۲، ۱۵، ۲۴، ۲۷). همچنین بی جو و همکاران (۴) گزارش کردند ریزنمونه‌های برگ کشت شده در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، درصد کالوس‌زایی بیشتری نسبت به ترکیبات هورمونی حاوی Kin تولید می‌شود و لازم به ذکر است کالوس‌ها در این ترکیب هورمونی زودتر شروع به رشد و نمو می‌کند.

**باززایی:** نتایج جدول تجزیه واریانس اثرات ساده ترکیب هورمونی و ریزنمونه و اثر متقابل آنها بر باززایی نشان داد که از لحاظ درصد باززایی، تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد برگ و طول برگ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین داده‌های باززایی نشان داد که ریزنمونه دمبرگ در ترکیب هورمونی حاوی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بیشترین درصد باززایی (۸۶ درصد)، تعداد شاخساره (۶/۹)، طول شاخساره (۴/۵ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۱۸) و طول برگ (۲/۸ میلی‌متر) را تولید می‌کند. همچنین کمترین درصد باززایی در ترکیب هورمونی حاوی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید. این در حالی است که ریزنمونه برگ در ترکیب هورمونی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ بیشترین درصد باززایی (۶۷ درصد)، تعداد شاخساره (۳/۵)، طول شاخساره (۳ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۱۰/۹) و



شکل ۳- شکل‌گیری شاخساره و برگ در ریزنمونه دمبرگ (A) و ریشه‌زایی گیاهچه‌های آنتوریوم در شرایط این ویترو (B)  
Figure 3 - The formation of shoots and leaf in petiole explants (A) and *in vitro* rooting of *Anthurium* plantlets (B)

جدول ۱- اثر ریزنمونه  $\times$  ترکیب هورمونی بر باززی گیاهچه آنتوریوم در ریزنمونه دمبرگ و برگ در گونه *A. scherzerianum*Table 1- The effects of explants and growth regulator composition on petiole and leaf regeneration in *A. scherzerianum*

| نوع ترکیب هورمونی<br>Growth regulator<br>(mg/l) | تعداد شاخه<br>Shoot number |             | طول شاخه<br>Shoot length<br>(cm) |             | تعداد برگ<br>Leaf number |             | طول برگ<br>Leaf length<br>(mm) |             | باززایی<br>Regeneration<br>(%) |             |
|---|----------------------------|-------------|----------------------------------|-------------|--------------------------|-------------|--------------------------------|-------------|--------------------------------|-------------|
|   | دمبرگ<br>Petiole           | برگ<br>Leaf | دمبرگ<br>Petiole                 | برگ<br>Leaf | دمبرگ<br>Petiole         | برگ<br>Leaf | دمبرگ<br>Petiole               | برگ<br>Leaf | دمبرگ<br>Petiole               | برگ<br>Leaf |
| 0.75 BA + 0.05 2,4-D                            | 6.9 a                      | 2.7 b       | 5 a                              | 2.5 a       | 18 a                     | 9.9 b       | 2.8 a                          | 2.5 a       | 86 a                           | 66.7 a      |
| 0.75 TDZ  | 5.5 b                      | 3.5 a       | 3.9 b                            | 3 a         | 12.5 b                   | 10.9 a      | 2.7 b                          | 2.7 a       | 83.5 a                         | 67 a        |
| 0.75 TDZ + 0.05 2,4-D                           | 4.5 c                      | 2.5 b       | 3.9 b                            | 2.9 a       | 11.5 b                   | 8.8 b       | 2.7 b                          | 2.6 a       | 80 ab                          | 63.9 a      |
| 0.75 BA + 0.1 NAA                               | 2.5 c                      | 1.5 c       | 2.9 c                            | 2.55 b      | 7c                       | 5 c         | 2.5 c                          | 2.5 b       | 69.5 b                         | 50.5 a      |

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ( $P < 0.05$ ) با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P < 0.05$ ) based on Duncan's multiple range test

### نتیجه‌گیری کلی

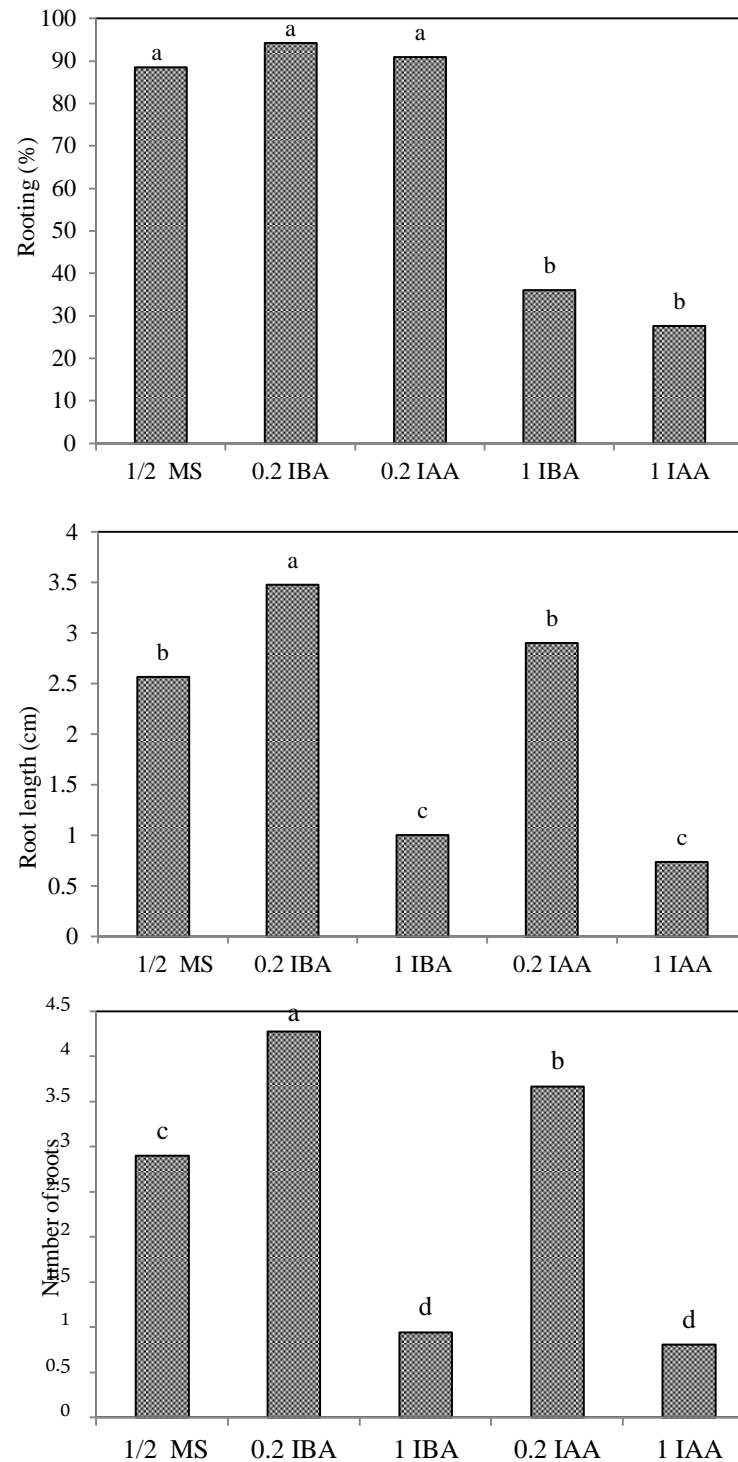
در حال حاضر بخش عمده‌ای از پایه‌های گیاه *A. scherzerianum* موجود در کشور از خارج تامین می‌شود و تکثیر آن به روش‌های سنتی با افت کیفیت مواجه است. گسترش روزافزون استفاده از این گیاه در جامعه شهری، واردات پایه‌های آن از خارج از کشور، اهمیت و نقش این گیاه و در اختیار نبودن روش مناسب برای تولید انبوه این پایه‌ها در شرایط این ویترو، انجام تحقیقات منسجم برای ریززادداری این گیاه را ضروری می‌سازد. از این رو در این پژوهش سعی بر این بود تا با بررسی و مطالعه کالوس‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های دمبرگ و برگ گیاه *A. scherzerianum* در شرایط درون شیشه‌ای و همچنین تعیین بهترین محیط‌های کشت کالوس‌زایی، باززایی، ریشه‌زایی و تعیین سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در جهت تولید انبوه این گیاه از طریق سیستم کشت بافت مورد بررسی قرار گیرد.

در بررسی اثر ریزنمونه در گیاه *A. scherzerianum* ریزنمونه دمبرگ بیشترین کالوس‌زایی و باززایی را نشان داد. بررسی اثر ترکیب هورمونی نشان داد بیشترین کالوس‌زایی در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد. همچنین بیشترین درصد باززایی در ترکیب هورمونی حاوی ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D مشاهده شد. بررسی اثر نوع و غلظت ترکیب هورمونی نشان داد غلظت پایین (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) اکسین‌ها اثر بهتری نسبت به سطوح بالای آنها (۱ میلی‌گرم در لیتر) بر ریشه‌زایی داشته بطوری که بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و کمترین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید شد. نتایج آزمایش سازگاری گیاهچه‌های آنتوریوم نشان داد بستر کوکوپیت و پرلیت (۲:۱) با ۹۰ درصد سازگاری بهترین بستر است.

همچنین بیشترین سرعت ریشه‌زایی در محیط کشت بدون هورمون رخ داد. این نتایج را محققان دیگر نیز گزارش کردند. معمولاً برای ریشه‌زایی در *A. andraeanum* از IBA و IAA با غلظت پایین در محیط کشت استفاده می‌شود (۶ و ۱۳).

اما بعضی دیگر از محققان از سطوح بالا اکسین (IBA و IAA) برای افزایش ریشه‌زایی استفاده کرده‌اند که با نتایج این آزمایش مطابقت ندارد (۱، ۱۱، ۲۲). پوچا و همکاران (۲۲) و اتاک و سیلیک (۱) برای ریشه‌زایی بیشتر شاخساره‌ها از IBA (۱ میلی‌گرم در لیتر) همراه با ۴ درصد زغال فعال در محیط کشت MS و B5 استفاده کردند. هرب و همکاران (۱۱) گزارش کردند که از بین ۵ غلظت (۰، ۱/۵، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) IBA شاخساره‌ها در ۲ میلی‌گرم در لیتر ریشه‌زایی بیشتری رخ می‌دهد.

**سازگاری:** به منظور سازگاری گیاهان باززا شده، می‌بایست کاهش تدریجی رطوبت انجام شود تا گیاهان به یکباره دچار تنش‌های رطوبتی و حرارتی نگردند. تحمل‌پذیری گیاه و بهینه بودن تکثیر انبوه گیاه، مقیاس اندازه‌گیری ناسازگاری گیاه در شرایط طبیعی می‌باشد. از آنجایی که خاستگاه آنتوریوم مناطق گرم و مرطوب است ایجاد شرایط رطوبتی و دمایی مطلوب گیاهچه‌های باززا شده آنتوریوم در زمان سازگاری بصورت کاملاً مناسب برای این گیاه فراهم شد. در این مرحله بسترهای مختلف کشت، کوکوپیت و پرلیت (۲:۱)، ورمی کولیت، پیت ماس و پرلیت (۲:۱) و ورمی کولیت و پرلیت (۱:۱) بررسی شد. با توجه به نتایج این آزمایش و پژوهشگران دیگر مشخص شد برای سازگاری اولیه آنتوریوم باید از بستر کشتی استفاده شود که سبک بوده و تبادل هوا در آن به راحتی انجام شود و از طرفی از نظر حفظ رطوبت نیز مناسب باشد. نتایج آزمایش سازگاری گیاهچه‌های آنتوریوم نشان داد بستر کوکوپیت و پرلیت (۲:۱) با ۹۰ درصد سازگاری بهترین بستر است. با توجه به نتایج آزمایش سازگاری هر نوع بستری که بتواند رطوبت را بیشتر حفظ کند برای مرحله سازگاری مناسب تر است.



شکل ۴- مقایسه اثر ترکیب هورمونی بر درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و طول ریشه، گیاهچه آنتوریوم

Figure 4 - Comparison of plant growth regulators on rooting percentage, number of roots and root length of *Anthurium* plantlets

## منابع

- 1- Atak, C., and Celik, O. 2009. Micropropagation of *Anthuriumandraeanum* from leaf explants. Pakistan Journal of Botany, 41:1155-1161.
- 2- Atak, C., and Celik, O. 2012. Micropropagation of *Anthurium* spp. Plant Science Journal, 40: 241-253.
- 3- Atta-Alla, H., Mcalister, B.G., and Van Staden, J. 1998. In vitro culture and establishment of *Anthurium parvispathum*. South African Journal of Botany, 64:296-298.
- 4- Bejoy, M., Smitha, V.R., and Anish, N.P. 2008. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort Agnihotri. Biotechnology, 7:134-137.
- 5- Beyramizade, E., Azadi, P., and Mii, M. 2008. Optimization of factors affecting organogenesis and somatic embryogenesis of *Anthrium andraeanm* Lind. Propagation Ornamental Plants, 8: 198-203.
- 6 - Cheraghi, .A.L. 1389. Effects of explants, cultivar, growth regulators on *in vitro* culture of the *Anthurium* plant, Master thesis, Ferdowsi University of Mashhad. (in Persian)
- 7- Finnie, J.F., and Staden. J. 1986. *In vitro* culture of *Anthurium andraeanum*. South African Journal of Botany, 52:343-346.
- 8- Geier, T. 1986. Factors affecting plant regeneration from leaf segments of *Anthurium scherzerianum* Schott (*Araceae*) cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 6: 115-125.
- 9- Guo, 1.Z., Zhao-xue, F., and Mi-hong, C. 2006. Callus Induction from different explant of *Anthurium andraeanum* and bud differentiation. Journal of Northwest Forestry University, 3: 116-121.
- 10- Hamida, M., Abdul Karim, A.G., and Debergh, P. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium scherzerianum*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48: 189-193.
- 11- Harb, E.M., Talat, N.B., Weheeda, B.M., Shamy, M.A., and Omira, G.A. 2010. Micropropagation of *Anthurium andraeanum* from shoot tip explants. Journal of Applied Science Research, 6: 927-931.
- 12- Jahan, M.T., Islam, M.R., Khan, R., Mamun, A.N.K., Ahmad, G., and Hakim, L. 2009. *In vitro* Clonal Propagation of *Anthurium* (*Anthurium andraeanum* L.) using Callus Culture. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 19: 61-69.
- 13- Joseph, D., Martin, K.P., Madassery, J. and Philip, V.J., 2003. *In vitro* propagation of three commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. Indian, Journal of Experimental Biology, 41: 154-159.
- 14- Kuehnle, A.R., and Sugii, N. 1991. Callus induction and plantlet regeneration in tissue culture of *Hawaii ananthurium*. Horticulture Science, 26: 919-921.
- 15- Kuehnle, A.R., Chen, F.C., and Sugii, N. 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration *Anthurium andraeanum* hybrids. Plant cell Reports, II: 438-444.
- 16- Khorramiraad, M., BohluliZanjani, S., Shoor, M., Hamidoghli, Y., RamezaniSayyad, A., Kharabian Masouleh., A and Kaviani, B. 2012. Callus induction and organogenesis capacity from lamina and petiol explant of *Anthurium andraeanum* Linden (Casino and Antadra). Australian Journal of Crop Science, 6: 928-937.
- 17- Martin, K.P., Joseph, D., Madassery, J., and Philip, V.J. 2003. Direct shoot regeneration from lamina of two commercial cut flower cultivars of *Anthurium andraeanum* Hort. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 39: 500-504.
- 18- Montes, S., Hernnandez, M. M., and Varela, M. 1999. Organogenesis in *Anthurium cubense*. Cultivos Tropicales, Physiology Plant, 20: 51-54.
- 19- Moradi, P. B., and Livari A. 2004. Proliferation and production through tissue culture *Anthurium*. The First National Seminar of Cut Flowers. PAKDASHT. Tehran.
- 20- Nhut, D. T., Duy, N., Nhuha Ha, N., Diem Khue, C., Van Khiem, D., Thanh Hang., N. T., and Vinh, D. N. 2004. Artificial seed for propagation of *Anthuriurn* Tropical. Journal of Agriculture Science and Technology, 4: 73-78.
- 21- Pierik, R.L.M., Steegmans, H.H.M., and Van der Meys, J.A.J. 1974. Plantlet formation in callus tissue of *Anthurium anderanum* Lind. Scientia Horticulturae, 2: 193-198.
- 22- Puchooa, D. 2005. *In vitro* mutation Breeding of *Anthurium* by gamma radiation. International Journal of Agriculture and Biology, 7: 11-20.
- 23- Teng, W. L. 1997. Regeneration of *Anthurium* adventitious shoots using liquid or raft culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 49: 153-156.
- 24- Te-chato, S., Naksombut, S., and Boonsiri, J. 2002. Effect of variety and explant on callus formation and micropropagation of *Anthurium*. Songklanakarinn Journal of Science and Technology, 24: 569-578.
- 25- Viegas, J., Rocha, M. T. R., Ferreira-Moura, 1., Rosa, D. L., Souza, J.A., Correa, M. G. S., and Silva, L. 2007. *Anthurium andraeanum* (Lind ex Andre) culture: *In vitro* and *ex vitro*. Floriculture and Ornamental Biotechnology, 1:61-65.
- 26- Winarto, B., Rachmawatii, F., and Teixeira da silva, 1. A. 2011. New basal media for half-anther culture of *Anthurium andraeanum* Linden ex Andre cv. Tropical. Plant Growth Regulation, 65: 513-529.
- 27- Yu, Y., Liu, L., Liu, J., and Wang, J. 2009. Plant regeneration by callus mediated protocorm -Like Body Induction of *Anthurium andraeanum* Hort. Agricultural Sciences in China, 8: 527-577.



## Optimization of Indirect Regeneration in *Anthurium scherzerianum*

A. Noroozi<sup>1</sup>- A. Bagheri<sup>2\*</sup>- N. Moshtaghi<sup>3</sup>- A. Sharifi<sup>4</sup>

Received: 15-02-2016

Accepted: 04-03-2017

**Introduction:** *Anthurium* is a popular genus of the Araceae (order Spathiflorae). The flower consists of a protruding spadix containing numerous florets, subtended by a brightly colored modified leaf, the spathe. *Anthurium* are bisexual and protogynous. *Anthurium scherzerianum* as the most important species of *Anthurium* genus is a potted perennial plant. Due to having beautiful, attractive and long-life flowers, *A. scherzerianum* can be used for the production of pot and cut flowers. Tissue culture is suggested as the most commonly method in order to rapid propagation and removing disease in a short period of time. This method also recommended for *Anthurium* because of problems in classical propagation method of this flower. The three basic propagation methods for *Anthurium* are propagation by seed, traditional vegetative and tissue culture. Micropropagation of *Anthurium* is using for commercial production.

**Materials and Methods:** In this study, the effect of plant growth regulators and explants on indirect regeneration of *A. scherzerianum* determined in separate experiments. In the first experiment, callogenesis was done by leaf explants on MS medium containing growth regulators, BA in three concentrations (0.5, 1.25 and 2 mg/l) in combination with 2, 4-D (0.5, 1.25 and 2 mg/l) or NAA (0.5, 1.25 and 2 mg/l) and the combinations of TDZ (0.5, 1.25 and 2 mg/l) with

2, 4-D (0, 0.5 mg/l). In the second experiment, regeneration was done on MS medium containing 0.75 mg/l BA with 0.05 mg/l 2, 4-D and 0.1 mg/l NAA and also in combination with TDZ (0.75 mg/l). For rooting, MS medium containing different concentrations of IBA and IAA (0, 0.2 and 1 mg/l) were used. Callus induction, regeneration and rooting experiments were done based on completely randomized design, with 12, 6 and 6 replications, respectively. Data from all the schemes used in this study were analyzed with SAS statistical software. The comparison of means using Duncan's multiple range test was evaluated at the 5% level.

**Results and Discussion:** Analysis of variance showed that the effect of explant type and hormone combinations was significant on the percentage of callogenesis, callus volume and survival percentage. The interaction effect of explant type and combination of hormones was also significant on percentage of callogenesis and the volume of callus. Means comparisons showed that the highest callogenesis, viability and callus volume were achieved on MS medium containing 2 mg/l of BA and 0.5 mg/l of 2, 4-D. Petiole explants, also produced the highest percentage of callus (95%), survival rate (96%) and callus with dimensions of 6 mm<sup>2</sup>. Callus formation in leaf vein explants was higher than others. The effect of explant type and hormone combinations on regeneration, number of branches, number of leaves and leaf length was significant. The interaction of explant and hormone combinations on regeneration, number of branches, number of leaves and leaf length was also significant. Moreover, results of regeneration experiment indicated that the maximum number of shoots (6.9) and the maximum shoot length (5 cm), number of leaves (18) and the leaf length (2.8 mm) were achieved in 0.75 mg/l BA mg/l of and 0.05 mg/l 2, 4-D. In this study, petiole explants were also regenerated earlier than leaf explants. The effect of hormone combinations and concentrations was significant on rooting specially on the number of roots and root length. Furthermore, results of rooting experiment revealed that the highest rooting percentage (95%), the maximum number of roots (4.5 per plantlet) and the longest roots (3.5 cm) were produced in the medium containing 0.2 mg/l of IBA. Finally, the rooted plantlets were adapted (90%) in vivo condition by placing them on a mixture of cocopeat and perlite (2:1) substrate.

**Conclusion:** In this study callogenesis, regeneration and rooting of *A. scherzerianum*'s petiole and leaf explants were studied and different levels of plant growth regulators used for callogenesis and regeneration. In this study petiole explants showed the highest callogenesis and regeneration. MS medium containing BA (2 mg/l) and 2, 4-D (0.5 mg/l), was the best for callogenesis. Also the highest percentage of regeneration was

1, 2 and 3- Msc Graduated Student, Professor and Associate Professor of Agricultural Biotechnology, Agricultural College, Ferdowsi University of Mashhad

(\*- Corresponding Author Email: bagheriyazd@gmail.com)

4- Faculty of Ornamental Plant Biotechnology, ACECR, Mashhad Branch

observed in medium containing BA (0.75 mg/l) and 2, 4-D (0.05 mg/l). Moreover low concentration (0.2 mg/l) of auxin has a better effect on rooting than high levels (1mg/l) so that the highest rooting percentage was produced in medium containing IBA (0.2 mg/l) and the lowest rooting percentage was produced in medium containing IAA (1 mg/l). *Anthurium* plantlets acclimized is cocopeat and perlite substrate (2: 1) with 90% acclimation.

**Keywords:** Callus, Growth regulators, Regeneration, Rooting, Tissue culture



## اثر تنش آبی بر روند تغییرات پرولین، قندهای محلول، محتوای نسبی آب و پروتئین‌های محلول برگ دو گونه گل جعفری

سید موسی موسوی<sup>۱</sup> - مهرانگیز چهارازی<sup>۲\*</sup> - اسمعیل خالقی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۵/۰۶

### چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در بخش کشاورزی و مدیریت فضای سبز شهری به شمار می‌آید. تحقیقات گذشته در زمینه تنش آبی بیانگر اثرات منفی آن بر خصوصیات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان می‌باشد. بر این اساس، پژوهشی به منظور بررسی اثر سطوح مختلف کم‌آبی (۱۰۰ به عنوان شاهد، ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق (ETcrop)) بر روند تغییرات پرولین، قندهای محلول کل، محتوای آب نسبی و میزان پروتئین‌های محلول برگ در دو گونه گل جعفری (فرانسوی و آفریقایی) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. نتایج نشان داد با افزایش سطوح کم‌آبی بر میزان پرولین و قندهای محلول کل برگ افزوده و روند تغییرات این صفات با گذشت زمان افزایش یافت، به طوری که در ۴۳ روز پس از اعمال تیمار خشکی میزان پرولین برگ در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC در مقایسه با تیمارهای شاهد و تیمار آبیاری ۷۵ درصد ETC به ترتیب ۲/۶۴ و ۱/۳۵ برابر افزایش یافت و بیشترین میزان پرولین برگ و قندهای محلول کل برگ مربوط به تیمار ۵۰ درصد ETC بود. همچنین نتایج نشان داد میزان پروتئین‌های محلول برگ و میزان محتوای نسبی آب برگ نیز با کم شدن سطح آبیاری کاهش یافت، به گونه‌ای که کمترین میزان محتوای نسبی آب برگ و میزان پروتئین‌های محلول برگ در تیمار ۵۰ درصد ETC مشاهده شد. به طور کلی به دلیل عدم معنادار بودن شاخص‌های اندازه‌گیری شده بین تیمار شاهد و ۷۵ درصد ETC، می‌توان انتظار داشت که با کاهش ۲۵ درصدی نیاز آبی گل جعفری در جهت مدیریت بهینه آب در فضای سبز گام برداشت.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، پتانسیل تبخیر و تعرق، کم‌آبی

### مقدمه

خشکی، فعالیت‌های فیتوشیمیایی گیاه متوقف شده و میزان کلروفیل برگ و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین در فرآیند فتوسنتز کاهش می‌یابد (۳۱).

همچنین تحقیقات حاکی از آن است که برحسب شدت تنش، برخی از گیاهان ممکن است با تولید متابولیت‌های سازگاری نظیر اسیدهای آمینه، آنتی‌اکسیدانت‌ها و هورمون‌ها اثرات تنش را خنثی یا کاهش داده و به رشد خود ادامه دهند (۳۰). پرولین پایدارترین اسید آمینه‌ای است که در برابر تنش‌های اکسیداتیو مقاومت کرده و کم‌ترین اثر بازدارندگی را بر رشد سلول‌ها در بین تمام اسید آمینه‌ها دارد. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که افزایش تنش خشکی منجر به افزایش میزان پرولین، قندهای محلول، کاهش رنگیزه‌های گیاهی و کاهش پارامترهای رشد گونه‌های مختلف اکالیپتوس گردید (۳۸). همچنین قندهای محلول در تنظیم اسمزی سلول نقش داشته و در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابند و تعیین میزان قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (۳۵). به بیان دیگر اینکه تنظیم اسمزی می‌تواند

گل جعفری با نام علمی *Tagetes spp* (آفریقایی) *T. erecta L.* و فرانسوی *T. patula L.* متعلق به خانواده Asteraceae گیاهی یک‌ساله است که به عنوان گل حاشیه‌ای در فضای سبز مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش تکثیر این گیاه از طریق بذر بوده و pH مناسب محیط کشت آن ۶-۶/۵ می‌باشد (۱۷ و ۱۴). با عنایت به کمبود نزولات جوی و شرایط اقلیمی کشور کمبود آب یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در بخش کشاورزی و مدیریت فضای سبز شهری محسوب می‌گردد. در واقع کمبود آب و خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی بوده که می‌تواند مراحل مختلف رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر خود قرار دهد. (۴ و ۶). مطالعات نشان داده‌اند که در اثر تنش

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیاران گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(Email: chehrazi\_m@yahoo. Com)

\*- نویسنده مسئول:

اعمال تیمار) اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری میزان پرولین برگ از روش بیتز و همکاران (۵)، ۵/۰ گرم از نمونه‌های تر گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به وسیله هاون هموژن شده و عصاره حاصل صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف‌شده فوق ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک و ۲ میلی‌لیتر اسید ناین هیدرین (شامل ۱/۲ میلی‌لیتر اسیداستیک، ۵/۰ گرم ناین هیدرین، ۰/۸ میلی‌لیتر اسید ارتوفسفریک ۶ مولار) اضافه شد. محلول حاصل به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد، پس از آن برای پایان یافتن واکنش لوله‌های آزمایش در داخل یک بستر یخی قرار گرفتند و ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد (۵). غلظت پرولین نمونه‌ها در تولوئن، با استفاده از طیف سنج در طول موج ۵۲۰ نانومتر و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین، میزان پرولین نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول برگ به روش شلیگل (۳۹)، مقدار ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به ۰/۱ گرم از نمونه برگی آسیاب شده اضافه شد و بعد از ورتکس، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند عصاره‌های حاصل به منظور تبخیر اتانول به مدت ۲۴ ساعت درون پتری دیش در آون نگهداری شدند پس از تبخیر الکل، جرم کف پتری‌ها با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر شسته شده و درون فالکون ریخته شد. به منظور حذف رسوبات اضافی و ترکیبات دیگر، مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول ۵ درصد سولفات روی و ۴/۷ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال به فالکن‌ها اضافه شد. پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ فالکن‌ها، به ۲ میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده، ۱ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد فنل اضافه شد پس از ورتکس، ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۹۸ درصد به آن اضافه شد. پس از آماده‌سازی محلول‌ها، ۴۵ دقیقه برای تثبیت رنگ محلول‌ها صبر کرده و سپس نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول‌موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شدند (۳۹).

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ به روش ریچی و همکاران (۳۷)، پس از نمونه‌گیری و انتقال برگ‌ها به آزمایشگاه، با استفاده از دستگاه پانچ ۱۲-۱۰ عدد دیسک برگی تهیه و توزین شدند (وزن تر). سپس دیسک‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در آب مقطر خیسانده و مجدداً وزن شدند (وزن تورژسانس). سپس دیسک‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک‌شده و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد (وزن خشک) و با توجه به فرمول زیر محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید.

$$RWC = Fw - Dw / Sw - Dw \times 100$$

Fw: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری

Dw: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون

Sw: وزن آماس برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

به واسطه تجزیه پلی ساکاریدهایی نامحلول نظیر نشاسته و فروکتان به قندهای محلول مانند اولیگوساکاریدها، ساکارز و گلوکز صورت گیرد (۱۸). همچنین افزایش قندهای محلول در زمان تنش می‌تواند به واسطه سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوسنتزی نیز صورت گیرد (۱۵). بوم (۸) معتقد است که محتوی نسبی آب برگ بهترین معیار اندازه‌گیری وضعیت آب گیاه بوده (۸) و کاهش محتوای نسبی آب سلول در اثر تنش خشکی باعث کاهش طولیل شدن ساقه و برگ و فتوسنتز گیاه می‌شود (۹ و ۲۸). تغییر در تولید پروتئین و یا تخریب آن از جمله مراحل متابولیسی است که می‌تواند تحت تأثیر تنش خشکی قرار گیرد (۳۴). با توجه به اینکه تنش خشکی یکی از معضلات مهم به‌ویژه در صنعت کشاورزی و همچنین در بخش فضای سبز به شمار می‌آید لذا بررسی اثرات مخرب حاصله از تنش خشکی بر خصوصیات گیاه امری ضروری است بنابراین پژوهش حاضر باهدف بررسی تأثیر سطوح مختلف کم‌آبی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه از گل جعفری اجرا شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف کم‌آبی (۱۰۰ به‌عنوان شاهد، ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق (ETcrop)) (۲ و ۲۳) بر روند تغییرات برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه گل جعفری انجام شد. از مشخصات دو گونه گل جعفری می‌توان به کوتاه‌تر بودن ارتفاع، کوچک‌تر بودن گل‌ها و تولید گل بیشتر در جعفری فرانسوی نسبت به نوع آفریقایی اشاره نمود. بررسی آماری پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در فضای باز جنب گلخانه‌های دانشگاه شهید چمران اهواز به اجرا درآمد. در این آزمایش بذور دو گونه گل جعفری آفریقایی با نام علمی *Tagetes erecta* L. و جعفری فرانسوی با نام علمی *Tagetes patula* L. درون سینی‌های کشت با بستر کوکوپیت در گلخانه کشت گردید و در مرحله ۴ برگی، نشاها به گلدان‌هایی به ابعاد ۱۶×۱۹cm در فضای باز منتقل شدند، در هر گلدان ۳ گیاه جهت اندازه‌گیری روند تغییرات صفات کشت شد. بستر کشت مورد استفاده در این آزمایش شامل ماسه، کود حیوانی کاملاً پوسیده و خاک مزرعه با نسبت مساوی (۱:۱:۱) بود (جدول ۱). پس از انتقال نشاها تا ۳ هفته جهت مستقر شدن و سازگاری گیاهان با محیط کشت آبیاری کامل صورت گرفت و سپس در مرحله ۶ برگی و با توجه به میزان تبخیر و تعرق روزانه تحت رژیم‌های آبیاری ۱۰۰ (شاهد)، ۷۵ و ۵۰ درصد تبخیر و تعرق گیاه قرار داده شدند و هر سه روز یکبار عمل آبیاری صورت گرفت و سپس شاخص‌هایی نظیر پرولین برگ، قندهای محلول کل برگ، محتوای آب نسبی برگ ۳ مرتبه با فواصل هر ۲۱ روز یکبار و میزان پروتئین‌های محلول یک مرتبه (۶۳ روز پس از



جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه آزمایش  
characteristics of the farm soil Table 1- Some physical and chemical

| هدایت الکتریکی EC (ds/m) | ماده آلی Organic matter (%) | کلر CL (Mg/l) | فسفر P (Mg/kg) | پتاسیم P (mg/kg) | نیتروژن N (%) | اسیدیته خاک Soil acidity (PH) | عمق نمونه Depth sample (cm) | شن Sand (%) | سیلت Silty (%) | رس Clay (%) | بافت خاک Soil texture |
|--------------------------|-----------------------------|---------------|----------------|------------------|---------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------|----------------|-------------|-----------------------|
| 7.08                     | 4.9                         | 910           | 8              | 194.4            | 0.088         | 7.08                          | 0-30                        | 84          | 6.5            | 5           | Sand clay             |

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار آبیاری و گونه بر میزان پرولین برگ گل جعفری  
Table 2- Analysis of variance of effect of irrigation and species on leaf proline of *Tagetes spp*

| میانگین مربعات<br>Mean Square |               |  |  |  |
|-------------------------------|---------------|--|--|--|
| منبع تغییرات S.O.V            | درجه آزادی df | ۲۱ روز پس از اعمال تیمار 21 days after treatment | ۴۲ روز پس از اعمال تیمار 42 days after treatment | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار 63 days after treatment |
| بلوک Block                    | 2             | 40.23 <sup>n.s</sup>                             | 55580.18 <sup>n.s</sup>                          | 3242.81 <sup>n.s</sup>                           |
| آبیاری Irrigation             | 2             | 62.55 <sup>n.s</sup>                             | 143222.1 <sup>**</sup>                           | 10966.91 <sup>**</sup>                           |
| گونه Species                  | 1             | 13.57 <sup>n.s</sup>                             | 23.42 <sup>n.s</sup>                             | 31.25 <sup>n.s</sup>                             |
| آبیاری × گونه I × S           | 2             | 31.83 <sup>n.s</sup>                             | 16683.63 <sup>n.s</sup>                          | 290.58 <sup>n.s</sup>                            |
| خطای آزمایش Error             | 10            | 4.41   | 43.381   | 10.84  |
| ضریب تغییرات (CV)             | -             | 12.3%  | 10.84%   | 9.3%   |

ns و \*\*: به ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد می‌باشد  
ns, \*\*: non-significant and Significant at 1% probability levels, respectively

داده‌های به دست آمده، رابطه رگرسیون میان غلظت پروتئین و میزان جذب به دست آمد (۱۰). در پایان به منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم افزار MSTATC و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید.

## نتایج و بحث

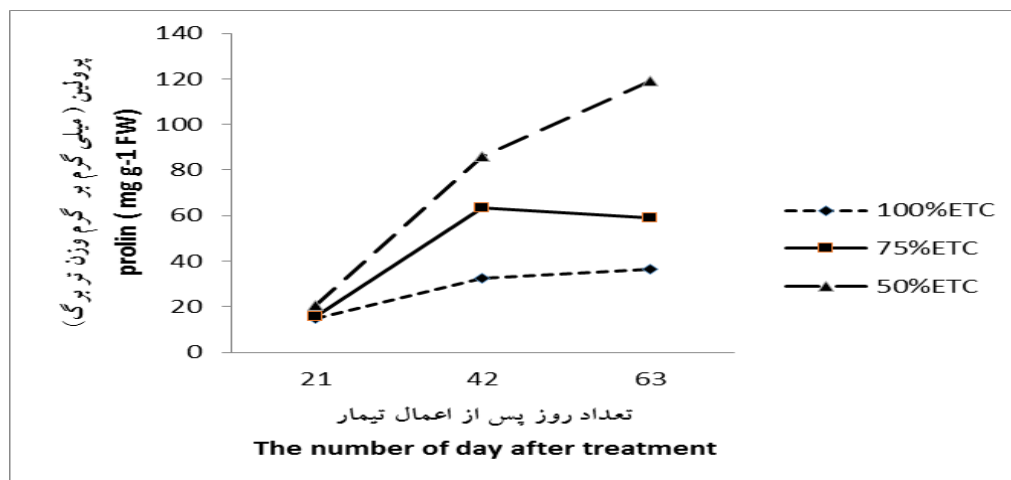
### میزان پرولین برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر ساده سطوح مختلف آبیاری در ۴۲ و ۶۳ روز پس از اعمال تیمار (در سطح ۱ درصد)، بر میزان پرولین برگ تأثیر معنی‌داری داشته و گونه گیاهی و اثر متقابل دو تیمار در میزان پرولین برگ فاقد تأثیر معنی‌دار بودند. با توجه به نمودار روند تغییرات پرولین (شکل ۱) که حاکی از مقایسه میانگین‌ها نیز می‌باشد، در ۴۳ روز پس از اعمال تیمار، میزان پرولین برگ در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC، در مقایسه با تیمارهای شاهد و آبیاری ۷۵ درصد ETC به ترتیب ۲/۶۴ و ۱/۳۵ برابر افزایش یافت همچنین

برای سنجش غلظت پروتئین محلول به روش بردفورد (۱۹۷۶)، ۱ گرم نمونه برگ فریز شده را با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار در هاون چینی به خوبی ساییده سپس مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد پس از اتمام سانتریفیوژ مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره شفاف، درون لوله آزمایش ریخته و سپس ۲/۹ میلی‌لیتر معرف بردفورد به آن اضافه و سریعاً ورتکس داده شد. پس از ۵ دقیقه میزان جذب نوری محلول حاصل با اسپکتروفوتومتر (1201 - UV) در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد ۰/۱ گرم از پروتئین استاندارد آلبومین گاوی (BSA) در ۳۰ میلی‌لیتر محلول نمک ۰/۱۵ مولار حل شد و با آب دوبار تقطیر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (محلول مادری با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر). از محلول مادری برای تهیه سری استاندارد با غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از بردفورد افزوده و سریعاً ورتکس شدند. پس از ۵ دقیقه میزان جذب نوری محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. بر اساس

درصد ETC داشت به طوری که نسبت به شاهد ۳/۲۵ برابر افزایش نشان داد.

میزان پرولین برگ در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC افزایش چشمگیری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۷۵



شکل ۱- تغییرات میزان پرولین برگ گل جعفری تحت سطوح مختلف تنش کم آبی

Figure 1- The *Tagetes spp* leaf proline changes affected by different levels of water deficit

تحت رژیم‌های مختلف آبیاری در طی زمان آزمایش می‌باشد، مشاهده گردید که در ۲۱ روز پس از اعمال تیمار، بیشترین میزان قندهای محلول کل برگ مربوط به تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC بود در حالی که بین تیمار شاهد (ETC ۱۰۰ درصد) و تیمار آبیاری ۷۵ درصد ETC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت همچنین در ۴۳ روز پس از اعمال تیمار، میزان قندهای محلول در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC، در مقایسه با تیمارهای شاهد و آبیاری ۷۵ درصد ETC به ترتیب ۱/۸۷ و ۱/۳۶ برابر افزایش یافت. میزان قندهای محلول کل برگ در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار، در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC نسبت به تیمار شاهد و تیمار ۷۵ درصد ETC افزایش معنی‌داری نشان داد به طوری که در مقایسه با شاهد ۱/۱۵ برابر افزایش یافت. نتایج مستخرج از جدول (۴) که نشان‌دهنده اثر گونه بر میزان قندهای محلول برگ می‌باشد، حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گونه‌ها در ۴۲ و ۶۳ روز پس از اعمال اولین تیمار است که بیشترین میانگین‌ها در گونه جعفری آفریقایی مشاهده شد.

به نظر می‌رسد تجمع کربوهیدرات‌های محلول کل در برگ در شرایط تنش خشکی به دلیل تنظیم فشار اسمزی برگ و پایداری غشای سلولی باشد. کاملی و لوزل (۲۲) و مارتین و همکاران (۲۹) گزارش کرده‌اند که ترکیباتی همانند کربوهیدرات‌های محلول تنظیم اسمزی و مکانیسم‌های حفاظتی نقش دارند و قندهای محلول کل در برگ گیاهان تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند (۲۱) و (۲۹).

پرولین یکی از پایدارترین اسیدهای آمینه است که در برابر هیدرولیز اسیدی اکسیداتیو به توکسین‌ها، مقاومت می‌کند و کمترین اثر بازدارندگی را در رشد سلول‌ها در بین تمام اسیدهای آمینه دارد (۲۶). افزایش پرولین در طی تنش ممکن است نتیجه تجزیه پروتئین‌ها و همچنین کاهش استفاده از آن‌ها به دلیل کاهش رشد گیاه باشد. پرولین از طریق مکانیسم‌های مختلف شامل تنظیم وضعیت اسمزی، سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و ثبات آنزیم‌ها یا پروتئین‌ها، گیاهان را در مقابل تنش‌های محیطی محافظت می‌کند. در برخی از گیاهان ثابت شده است که تغییرات میزان پرولین با توانایی آن‌ها برای تحمل یا سازش به شرایط تنش مرتبط است و می‌تواند به عنوان شاخصی برای انتخاب گیاهان مقاوم به تنش استفاده شود (۳۲). تجمع پرولین در هنگام تنش خشکی در آمارانتوس زینتی نیز گزارش شده است (۲۱).

#### قندهای محلول کل برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر ساده سطوح مختلف آبیاری در سه بازه زمانی (۲۱ و ۴۲ روز پس از اعمال تیمار در سطح ۵ درصد و ۶۳ روز پس از اعمال تیمار در سطح ۱ درصد) و اثر ساده گونه گیاه در ۴۲ و ۶۳ روز پس از اعمال اولین تیمار، تفاوت معنی‌داری داشت همچنین با اعمال تیمار اثر متقابل (گونه گیاه و سطوح آبیاری) در هر سه مرحله داده‌برداری تفاوت معنی‌داری از نظر میزان قندهای محلول کل برگ مشاهده نشد. در نمودار شماره (۲) که بیانگر روند تغییرات قندهای محلول کل برگ،

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار آبیاری و گونه بر قندهای محلول برگ گل جعفری  
Table 3- ANOVA of effect of irrigation and species on leaf total Soluble sugars of *Tagetes spp*

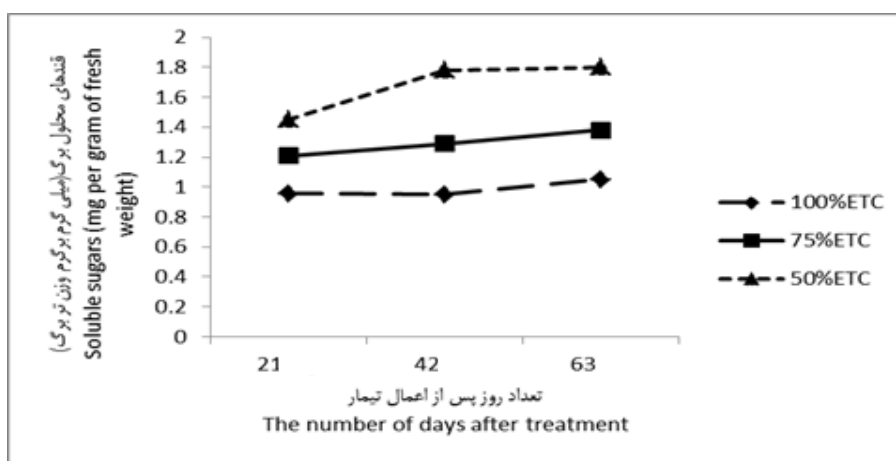
| منبع تغییرات<br>S.O.V | df | میانگین مربعات<br>Mean Square |                             |                             |
|-----------------------|----|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                       |    | ۲۱ روز پس از اعمال<br>تیمار   | ۴۲ روز پس از اعمال<br>تیمار | ۶۳ روز پس از اعمال<br>تیمار |
|                       |    | 21 days after<br>treatment    | 42 days after<br>treatment  | 63 days after<br>treatment  |
| Block بلوک            | 2  | 0.15 <sup>ns</sup>            | 0.06 <sup>ns</sup>          | 0.05 <sup>ns</sup>          |
| Irrigation آبیاری     | 2  | 1.03*                         | 0.55*                       | 0.95**                      |
| Species گونه          | 1  | 0.55 <sup>ns</sup>            | 0.76*                       | 0.66**                      |
| I × S آبیاری × گونه   | 2  | 0.04 <sup>ns</sup>            | 0.007 <sup>ns</sup>         | 0.08 <sup>ns</sup>          |
| Error خطای آزمایش     | 10 | 0/0171                        | 0.0171                      | 0.03                        |
| ضریب تغییرات (CV)     | -  | 9.8%                          | 11.3%                       | 13.85%                      |

ns، \* و \*\*: به ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد  
ns, \* and \*\*: non-significant and Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تیمار گونه بر میزان قندهای محلول برگ گل جعفری  
Table 4- Comparison of mean effect species on leaf total soluble sugars of *Tagetes spp*

| گونه<br>Species                 | ۲۱ روز پس از اعمال تیمار<br>21days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) | ۴۲ روز پس از اعمال تیمار<br>42days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار<br>63days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) |
|---------------------------------|--|--|--|
| ( <i>T. erecta</i> L.) آفریقایی | 1.5217 <sup>a</sup>  | 1.3783 <sup>a</sup>  | 1.54200 <sup>a</sup>   |
| ( <i>T. patula</i> L.) فرانسوی  | 1.1813 <sup>a</sup>  | 0.9667 <sup>b</sup>  | 1.15878 <sup>b</sup>   |

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند.  
Means followed by the same letter are not significantly different (P<0.05) based on Duncan's multiple range test.



شکل ۲- روند تغییرات میزان قندهای محلول برگ گل جعفری تحت سطوح مختلف تنش خشکی  
Fig 2- The *Tagetes spp* leaves Soluble sugars changes affected by different levels of drought stress

دی کانکووا و همکاران (۱۳)، والتسویچ<sup>۱</sup> و همکاران (۴۱) مبنی برافزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ در شرایط تنش

آرزمجو و همکاران (۳) نیز بیان داشته‌اند که با بالا رفتن سطح تنش خشکی تا ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه در گیاه بابونه، بر میزان تجمع دو تنظیم‌کننده اسمزی (کربوهیدرات‌ها و پرولین) افزوده شد (۳). نتایج این تحقیق با یافته‌های احمدی و سی‌وسه مرده (۸)،

خشکی، مطابقت و همخوانی داشت.

### محتوای نسبی آب برگ (RWC)

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۵) نشان داد که بین سطوح مختلف آبیاری، در ۲۱ و ۴۲ روز پس از اعمال اولین تیمار در سطح احتمال ۱ درصد و در ۶۳ روز پس از اعمال اولین تیمار در سطح احتمال ۵ درصد از نظر میزان RWC برگ تفاوت معنی داری وجود داشت. درحالی که بین گونه‌ها و همچنین اثر متقابل گونه در آبیاری در بازه‌های زمانی اندازه‌گیری شده از نظر میزان RWC برگ تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. با توجه به نمودار (۳) در ۲۱ روز پس از اعمال تیمار، کمترین میزان RWC مربوط به تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC بود که با تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ETC) و تیمار آبیاری ۷۵ درصد ETC تفاوت معنی داری نشان نداد همچنین در ۴۳ روز پس از اعمال تیمار، میزان RWC در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC، در مقایسه با تیمارهای شاهد و آبیاری ۷۵ درصد ETC به ترتیب ۱/۳ و ۱/۲۴ برابر کاهش یافت.

میزان RWC برگ در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC کاهش چشمگیری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۷۵ درصد ETC داشت به طوری که نسبت به شاهد ۱/۲۸ برابر کاهش نشان داد. نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۶) نشان داد که کمترین میزان RWC در هر سه بازه زمانی و میزان پروتئین محلول در ۶۳ روز پس از اعمال اولین تیمار، مربوط به تیمار ۵۰ درصد ETC بود.

کاهش محتوای نسبی آب برگ نشان‌دهنده‌ی کاهش فشار تورژسانس در سلول‌های گیاهی است و موجب کاهش رشد می‌گردد (۴۱). با خارج شدن آب از خاک و عدم جایگزینی آن، پتانسیل آب در منطقه ریشه کاهش یافته و اگر مقاومت‌ها در گیاه ثابت بماند به منظور حفظ سرعت تعرق، پتانسیل آب در گیاه به‌طور مشابهی کاهش می‌یابد (۲۵). خورشیدی و همکاران (۱۳۸۱) در بررسی‌های خود بر روی گیاه دارویی گشنیز نشان دادند گیاهانی که تحت تنش خشکی قرار می‌گیرند، فضای بین سلولی و میزان آب در پیکره آن‌ها کاهش یافته تا آب از بافت خاک با نیروی بیشتری وارد گیاه گردد که این امر کاهش میزان آب نسبی در شرایط تنش می‌گردد (۲۴). کاهش محتوای نسبی آب برگ در واکنش به کاهش میزان تأمین نیاز رطوبتی گیاه نشانگر این است که در این حالت تأمین آب از ریشه‌ها منطبق با میزان اتلاف از برگ‌ها نیست (۲۷).

### میزان پروتئین‌های محلول برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۶) نشان داد سطوح مختلف آبیاری، در ۶۳ روز پس از اعمال اولین تیمار در سطح

احتمالاً درصد ۱ از نظر میزان پروتئین‌های محلول برگ تفاوت معنی داری وجود داشت درحالی که بین گونه‌ها و همچنین اثر متقابل گونه در آبیاری در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار از نظر میزان پروتئین‌های محلول برگ تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. با بررسی جدول مقایسه میانگین (جدول ۸) مشخص شد که در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار، کمترین میزان پروتئین‌های محلول برگ مربوط به تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC بود درحالی که بین تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ETC) و تیمار آبیاری ۷۵ درصد ETC تفاوت معنی داری وجود نداشت همچنین میزان پروتئین‌های محلول برگ در ۶۳ روز پس از اعمال تیمار در تیمار آبیاری ۵۰ درصد ETC کاهش چشمگیری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ۷۵ درصد ETC داشت به طوری که نسبت به شاهد ۲/۲۶ برابر و نسبت به تیمار ۷۵ درصد ETC، ۱/۲۷ برابر کاهش نشان داد. لازم به ذکر است که میزان پروتئین‌های محلول برگ فقط یک مرتبه (۶۳ روز پس از اعمال تیمار) اندازه‌گیری شد.

پژوهشگران نشان دادند بررسی مولکولی تحمل خشکی در گیاهان باعث شناخت کامل‌تر متابولیسم گیاهی در شرایط تنش خشکی گردیده است. تاکنون تعداد زیادی ژن القاء شونده در خشکی توسط پژوهشگران شناسایی شده است (۲۰). بیان برخی از این ژن‌ها موجب تولید ترکیباتی نظیر اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، قندها و بتائین‌ها می‌گردد (۱۹). یکی از تغییرات عمده بیوشیمیایی که در اثر کاهش رطوبت خاک در گیاهان زراعی روی می‌دهد، تغییر در میزان تولید پروتئین‌های گیاهی در جهت تجزیه و یا جلوگیری از ساختن بعضی از آن‌ها و نیز ساخت گروه کوچکی از پروتئین‌های مخصوص تنش است. در واقع در اثر تنش خشکی بیان برخی ژن‌ها موجب فعال یا غیرفعال شدن تعدادی از آنزیم‌ها می‌شود (۷ و ۱۲). به‌علاوه، کاهش در فراوانی پلی‌ریبوزوم‌ها با کاهش سنتز پروتئین‌ها در ارتباط است؛ بروز تنش رطوبتی، وضعیت پلی‌ریبوزوم‌های مؤثر در ساخته شدن پروتئین‌ها را در بافت‌ها تغییر می‌دهد. تعداد پلی‌ریبوزوم‌ها در شرایط کم‌آبی کاهش یافته و میزان آن بسته به گونه‌های مختلف گیاهی و نیز اندام‌های گوناگون در یک گیاه واحد، متفاوت می‌باشد. همزمان با کاهش کل پروتئین‌ها، مقدار آمینواسیدهای آزاد افزایش می‌یابد. تجمع بیشتر آمینواسیدها مربوط به کاهش سنتز پروتئین است اما در بعضی موارد بیوسنتز بعضی آمینواسیدهای مثل پرولین و بتائین افزایش می‌یابد (۳۳). کاهش غلظت پروتئین در شرایط تنش که با کاهش آنزیم رایسکو و نقصان فتوسنتز همراه است (۱۶)، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین می‌باشد (۱۱ و ۱۶). رای و همکاران (۱۹۸۳) در شرایط خشکی در مقایسه با میزان پروتئین کل و آمینواسیدهای آزاد در ارقام مقاوم و حساس به خشکی نخود و ذرت، مشاهده کردند که مقدار کل پروتئین و آمینواسیدهای آزاد گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان افزایش داشته‌اند (۳۶). نتایج این پژوهش با پژوهش بیولی ولارسن (۱۹۸۲) و شاه و

جدول ۵- اثر تیمار آبیاری و گونه بر میزان نسبی آب برگ (RWC) و پروتئین‌های محلول برگ گل جعفری

Table 5- Effect of irrigation and species on leaf relative water content (RWC) and soluble proteins of *Tagetes spp* leaf

| منبع تغییرات<br>S.O.V | درجه آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>Mean Square                       |   |   |   |
|-----------------------|------------------|---|---|---|---|
|                       |                  | میزان آب نسبی برگ<br>RWC                            |   | پروتئین‌های محلول<br>solution protein               |   |
|                       |                  | ۲۱ روز پس از اعمال تیمار<br>21 days after treatment | ۴۲ روز پس از اعمال تیمار<br>42 days after treatment | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار<br>63 days after treatment | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار<br>63 days after treatment |
| بلوک Block            | 2                | 16.46 <sup>ns</sup>                                 | 16.16 <sup>ns</sup>                                 | 103.92 <sup>ns</sup>                                | 146.309 <sup>ns</sup>                               |
| آبیاری Irrigation     | 2                | 584.05 <sup>**</sup>                                | 280.42 <sup>**</sup>                                | 428.86 <sup>*</sup>                                 | 2672.493 <sup>**</sup>                              |
| گونه Species          | 1                | 0/23 <sup>ns</sup>                                  | 13.93 <sup>ns</sup>                                 | 179.54 <sup>ns</sup>                                | 568.450 <sup>ns</sup>                               |
| آبیاری × گونه I × S   | 2                | 11.07 <sup>ns</sup>                                 | 6.31 <sup>ns</sup>                                  | 66.51 <sup>ns</sup>                                 | 92.365 <sup>ns</sup>                                |
| خطای آزمایش Error     | 10               | 16.46   | 34.89   | 106.11  | 44.089  |
| ضریب تغییرات (CV)     | -                | 13.49%  | 7.76%   | 15.39%  | 13.92%  |

ns, \*, \*\*: به ترتیب تفاوت غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح ۵ و ۱ درصد

ns, \*\*: non-significant and Significant at 1% and 5% probability levels, respectively

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر تیمار آبیاری بر میزان محتوای نسبی آب برگ و پروتئین محلول برگ گل جعفری

Table 6- Mean comparison of effect of species on the leaf and leaf Soluble protein of *Tagetes spp*

| سطوح آبیاری<br>Irrigation | میزان محتوای نسبی آب برگ<br>RWC   |   |   | پروتئین‌های محلول<br>Solution protein  |
|---------------------------|---|---|---|--|
|                           | ۲۱ روز پس از اعمال تیمار<br>21 days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) | ۴۲ روز پس از اعمال تیمار<br>42 days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار<br>63 days after treatment<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) | ۶۳ روز پس از اعمال تیمار<br>63 days after treatments protein<br>(mg g <sup>-1</sup> F W) |
| 100% ET <sub>C</sub>      | 81.164 <sup>a</sup>   | 80.093 <sup>a</sup>   | 74.662 <sup>a</sup>   | 71.641 <sup>a</sup>  |
| 75% ET <sub>C</sub>       | 78.846 <sup>a</sup>   | 76.776 <sup>a</sup>   | 68.232 <sup>ab</sup>  | 40.103 <sup>a</sup>  |
| 50% ET <sub>C</sub>       | 68.335 <sup>b</sup>   | 61.589 <sup>b</sup>   | 57.903 <sup>b</sup>   | 31.577 <sup>b</sup>  |

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد معنی‌دار نیستند

Means followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

## نتیجه‌گیری کلی

مقابله با شرایط کم‌آبی می‌باشند، مشاهده شد. همچنین بین تیمار شاهد و ۷۵ درصد ET<sub>C</sub> از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که این مهم می‌تواند در مدیریت بهینه آب در فضای سبز در نظر گرفته شود.

با توجه به معرفی تنش خشکی به‌عنوان مهم‌ترین تنش تأثیرگذار بر گیاهان در کشور ما (ایران)، انجام پژوهش در این زمینه حائز اهمیت می‌باشد. طبق نتایج این پژوهش، میزان پرولین و میزان قندهای محلول کل برگ در تیمار ۵۰ درصد آبیاری و مقدار RWC و پروتئین‌های محلول برگ در تیمار ۱۰۰ درصد آبیاری بیشترین میانگین‌ها را دارا بودند به عبارتی در سطوح کمتر آبیاری (۵۰ درصد ET<sub>C</sub>) شاخص‌های محتوای آب نسبی برگ و پروتئین‌های محلول برگ کاهش یافت و انباشته شدن متابولیت‌هایی چون پرولین و قندهای محلول (جهت تنظیم اسمزی) که جز مکانیسم‌های عمده در

## منابع

- 1- Ahmadi A., and Sio-Se Mardeh A. 2004. The effect of water stress on soluble carbohydrates, chlorophyll and proline contents of four Iranian wheat cultivars under different moisture regims. Iranian Journal of Agricultural Science, 35(3): 753-763 (in Persian).
- 2- Araji A. 2003. Effects of drought stress on physiological, morphological and biochemical characteristics some olive varieties. Treatise Faculty of Agriculture. Tarbiat Modarres University, 213 p. (in Persian).
- 3- Arazmjo A., Heidari M., and Ghorbani A. 2010. The effect of water stress and three sources of fertilizers on flower yield, physiological parameters and nutrient uptake in chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 25(4):482-494 (in Persian).
- 4- Bacelar E. A., Santaos D. L., Moutinho-Pereira J. M., Lopes J. I., Goncalves B. C., Ferreira T. C., and Correia, C. M. 2007. Physiological behavior, oxidative damage and antioxidative protection of olive trees grown under different irrigation regimes. Plant and Soil, 292(1-2):1-2.
- 5- Bates L. s., Waldren R. P., and Treare I. D. 1973. Rapid determination of freproline for water stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
- 6- Ben Ahmed C.B., Rouina B.B., Sensoy S., Boukhris M., and Abdallah FB. 2009. Changes in gas exchange, proline accumulation and antioxidative enzyme activities in three olive cultivars under contrasting water availability regimes. Environmental and experimental botany, 67(2):345-52.
- 7- Bewley j D., and Larsen K. M. 1982. Differences in the responses to water stress if growing and nongrowing regions of maize mesocotyls, protein synthesis on total, free and membrane bound polyribosome fractions. journal of Experimental Botany, 33(3):406-415.
- 8- Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regulation, 20(2): 135-148.
- 9- Boyer J. S. 1970. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean and sunflower at various leaf potentials. Plant Physiology, 46(2): 233-235.
- 10- Bradford M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.
- 11- Castrillo M., and Calcargo A. M. 1989. Effects of water stress and rewatering on ribolose-I, 5- bisphosphat carboxylase activity, and chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. Journal of Horticultural sciences, 64(6):717-724.
- 12- Dasgupta J., and Bewley J. D. 1984. Variation in protein synthesis in different regions of greening leaves of barley seedlings and effects of imposed water stress. Journal of Experimental Botany, 35(10):1450-1459.
- 13- De Kankova K., Luxova M., Gasparikova O., and Kolarovic L. 2004. Response of Maize Plants to Water stress. Biologia, 13:151 - 155.
- 14- Ghasemi-Ghahsare M., and Kafi M. 2010. Scientific and practical potting. , Volume I, Tenth Edition, p. 55. (in Farsi).
- 15- Ghorbanly M., and Niakan M. 2005. Effects of drought Stress on the content of soluble sugars, protein, proline, compound of phenolic and nitrate reductase activity Gorgan 3 of Soybean. Journal of Tarbiat Moalem, 5: 537-549 (in Persian).
- 16- Hanson A. D., and Hitz W. D. 1982. Metabolic responses of mezophytes to plant water deficit. Annual Review of Plant Physiology. 33(1):163-203.
- 17- Hekmati j. 2011. Seasonal flowers (*flowers outdoors*). Iran Agricultural Science. (in Persian).
- 18- Hendry G. (1993). Evolutionary origins and natural functions of fructanc. New Phytologist, 123:,3-14 (in Persian).
- 19- Iturriaga G., Gaff D.F., and Zentella R. 2000. New desiccation tolerant plants, including grass, in the central high-lands of Mexico, accumulate trehalose. Australian Journal of Botany, 48(2): 153-158.
- 20- Iuchi S., KobaYashi S., Yamaguchi-Shinozaki K., and Shinozaki K. 2000. A stress-inducible gene for 9-cisepoxycarotenoid dioxygenase involved in abscisic acid biosynthesis under water stress in drought-tolerant cowpea. Plant Physiology, 123(2): 553-562.
- 21- Kamali M., Goldani m., and Farzaneh A. 2012. The effect of that different irrigation levels on growth parameters and photosynthesis and hydrogen peroxide in *Amaranthus tricolor*. Journal of Soil and Water (Agricultural Science and Technology), 26:318-309. (in Persian).
- 22- Kameli A., and Losel D. M. 1995. Contribution of sugars and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. Journal of Plant Physiology, 145(3): 366 - 367.
- 23- Khaleghi A., Arzani K., moalemi N., and Barzegar M. 2014. To study the Effect of kaolin on fluorescence and chlorophyll content Olive leaf seedlings (*olea europaea* L.) Journal of Plant Production .Journal of Agriculture, 37 (2): 139-127. (in Persian).

- 24- Khorshidi M., Rahimzadeh b., Yarhadi M., and Noormohammadi, GH. 2002. The Effects of drought stress on the growth of potato varieties. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 4(1): 59-48 .(in Persian).
- 25- kuchaki A., Hosseini M., and Nasiri mahalati M. 1993. The relationship between water and land in crops (translation). published by Mashhad ACECR. 560 p .(in Persian).
- 26- Pérez-López U., Robredo A., Lacuesta M., Mena-Petite A., and Munoz-Rueda A. 2009. The impact of salt stress on the water status of barley plants is partially mitigated by elevated CO<sub>2</sub>. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3):463-70.
- 27- Lowlor D. W., Cornic G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*, 25(2): 275-294.
- 28- Mahmoud Nyamymnd M., Farsi M., Marashi H., and Ebadi P. 2012. Study the physiological responses to stress four species of tomato. *Journal of Horticultural Science (Agricultural Science and Technology)*, 26(4): 416-409 . (in Persian).
- 29- Martin M., Micell F., Morgan J. A., Scalet M., and Zerbi G. 1993. Synthesis of osmotically active substance in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 171(3): 176 - 184.
- 30- Moaveni P. 2011. Effects of drought stress on antioxidant enzymes and proline in sorghum. *Quarterly Journal of Crop Ecophysiology*. (1):24-30. (in Persian).
- 31- Monakhova O. F., Chernyadev I. I. 2002. Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38(4): 373-380.
- 32- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H., and Sharifizadeh, B. 2006. Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents and antioxidant enzymes in seedlings and calii of two *Trigonella* Species. *Biologia Plantarum*. 50 (4): 591-596.
- 33- Nilson E. T., and Orcutt D. M. 1996. *Physiology of Plant under stress (Abiotic factors)*. Abiotic factors. *Physiology of plants under stress. Abiotic factors*. New York. Pp. 322-36.
- 34- Ouvrard O., Cellier F., Ferrare K., Tusch v., Lamaze T., Du J.M., and Casse-Delbart F. 1996. Identification and expression of water stress- and abscisic acid-regulated genes in a drought-tolerant sunflower genotype. *Plant Molecular Biology*, 31(4): 819-829.
- 35- Pagter M., Bragato C., and Brix H. 2005. Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. *Aquatic Botany*, 81(4):285-299.
- 36- Rai V. K., Singh P.G., Thakur S., and Banyal S. 1983. Protein and amino acid relationship during water stress in relation to drought resistance. *Plant Physiology and Biochemistry*. 10: 161-167.
- 37- Ritchie S. W., Nguyen H. T., and Haloday A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotype differing in drought resistance. *Crop science*, 30(1):105-111.
- 38- Shariat A. Asareh M. H. 2006. The effect of stress on the plant pigments, proline, soluble sugars and growth parameters *Eucalyptus* species. *Research and development*. 149: 78-139 .(in Persian).
- 39- Sheligl H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal*,47-51
- 40- Valadabady S. A. A., Shiranirad H. and Farahani A. 2010. Effects of selenium on the eco-physiology of zeolite and drought resistance varieties of rapeseed plants .(in Persian).
- 41- Valentovic P., Luxova M., Kolarovic L., and Gasparikova O. 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize cultivars. *Plant Soil Environment journal*, 52 (4): 186 – 191.



## Effect Of Water Stresson Trend Changesof Leaf Proline, Total Soluble Sugars, Relative Water Content and Soluble Protein of Two Species of Pot Marigold

S. M. Mousavi<sup>1</sup>- M. Chehrazi<sup>2\*</sup> - S. Khaleghi<sup>3</sup>

Received: 29-02-2016

Accepted: 27-07-2016

**Background and objectives:** Water stress is one of the most important environmental stresses in agriculture and urban landscape management. Water stress has been defined as the induction of turgor pressure below the maximal potential pressure. Previous studies have showed that drought had been negative effects on morphological, physiological and biochemical characteristics of plants. Changes in protein expression, accumulation, and synthesis have been observed in many plant species as a result of plant exposure to drought stress during growth plants. The maintenance of plant water potential during water deficit is essential for continued growth and can be achieved by osmotic adjustment mechanisms resulting from the accumulation of compatible solutes such as proline in the cytoplasm. Proline acts as a "compatible solute", i.e. one that can accumulate to high concentrations in the cell cytoplasm without interfering with cellular structure or metabolism. Proline has a protective action which prevents membrane damage and protein denaturation during water stress. Accumulation of sugars in different parts of plants is enhanced in response to the variety of environmental stresses. Marigold (*Tagetes* spp.) is a genus of annual or perennial, belonging to the Asteraceae family, that is used as a marginal flower in the landscape. Due to the fact that drought stress is one of the most important problems especially in the agricultural industry and also in the landscape, it is necessary to study the damaging effects of drought stress on plant characteristics. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of different levels of water stress on physiological and biochemical characteristics of two types of pot marigold.

**Materials and Methods:** A research was conducted in order to investigate the effect of different levels of water deficit (100 as control, 75 and 50 percent of potential evapotranspiration (ET<sub>crop</sub>)) on trend changes of leaf proline, total soluble sugars, relative water content and soluble protein changes in two species of pot marigold (French and African) as a factorial experiment based on a randomized complete block design with three replications. In this experiment, two species of pot marigold seeds (African and French) were planted in the trays including cocopeat. Then seedlings were transplanted to pots with 19 × 16 cm dimensions. After transplanting, the seedlings were irrigated well for 3 weeks. Then plants were irrigated with 100%, 75% and 50% ET<sub>crop</sub>. Parameters such as leaf proline and total carbohydrates content, leaf relative water content were measured three times at intervals of once every 21 days but the amount of soluble proteins was measured one time in 63 days after treatment. Data analysis was performed using MSTATC software and mean comparison was done by Duncan's multiple range test at 5% and 1% probability.

**Results:** The results showed that leaf proline and total soluble sugars increased with increment in levels of water deficit and the trend changes of leaf traits were increased with the passing of time. So that, in 43 days after water stress treatment, leaf proline content had an increase of 3 or 4 times in 50% ET<sub>crop</sub> irrigation treatment compared with the control and 75% ET<sub>crop</sub> irrigation treatment, respectively. The highest levels of leaf proline (119.28 mg per gram of fresh weight) and total soluble sugars content (1.8 mg per gram of fresh weight) was related to 50% ET<sub>crop</sub> treatment. The amount of leaf total soluble sugars was also higher in African species compared with French species. The results showed that the leaf soluble proteins and relative water content decreased with reducing irrigation, so that the lowest amount of relative water content (57.9%) and soluble protein (31.57 mg per g fresh weight) were obtained in 50% ET<sub>crop</sub> treatment.

**Conclusion:** When the plants were exposed to progressive drought stress, changes appeared earlier in relative water content, whereas later effects in the levels of free proline, total soluble sugar, total soluble protein. The results showed that irrigation had significant effects on all evaluated parameters such as leaf proline, total soluble sugars, RWC and soluble proteins. Our findings also showed that there was no significant difference between control treatment and 75% ET<sub>crop</sub> treatment in the measured indices and it's important for optimal



management of water in landscape could be considered. Finally, it can be expected that African species is better than French species for planting in landscape.

**Keywords:** Irrigation, Potential evapotranspiration, Water deficit

## بررسی اثرات ژنوتیپ، نوع سیتوکنین و اکسین بر تکثیر درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های کاپیتول گیاه ژربرا (*Gerbera jamesonii*)

احمد شریفی<sup>۱</sup> - سیده مهدیه خرازی<sup>۲\*</sup> - فاطمه کیخا آخر<sup>۳</sup> - عبدالرضا باقری<sup>۴</sup> - الهه ثمری<sup>۵</sup> - مریم مرادیان<sup>۶</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۱۸

### چکیده

ژربرا یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی دنیا می‌باشد که هم به جهت زیبایی و گوناگونی و هم از نظر اقتصادی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. تکنیک‌های کشت بافت روش مناسبی را برای ریزازدیادی این گیاه زینتی فراهم کرده است. در این پژوهش تاثیر عوامل مختلف بر القاء باززایی، پرآوری، ریشه‌زایی و سازگاری ریزنمونه‌های کاپیتول ژربرا، بصورت چهار آزمایش جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت القاء باززایی، ریزنمونه‌های کاپیتول هشت رقم مختلف ژربرا در محیط کشت جامد MS حاوی ترکیب‌های هورمونی BA، TDZ، 2IP و یا KIN (۴ میلی گرم در لیتر) در ترکیب با IAA (۰/۲ میلی گرم در لیتر) کشت گردیدند. نتایج نشان داد که محیط کشت حاوی ۴ میلی گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۲ میلی گرم در لیتر هورمون IAA در تمامی ژنوتیپ‌ها، بیشترین درصد باززایی را القا نمود. در مرحله پرآوری، اثر سطوح مختلف هورمون BA بر میزان پرآوری گیاهچه‌های باززایی شده ژربرا ژنوتیپ Sunway مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین تعداد گیاهچه باززایی شده در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر هورمون BA با میانگین ۶ عدد گیاهچه باززایی شده و کمترین میزان آن در محیط کشت MS فاقد هورمون با میانگین ۱ عدد گیاهچه باززایی شده، مشاهده گردید. در مرحله ریشه‌زایی، ریزنمونه‌های رشد یافته ژربرا ژنوتیپ Sunway در محیط کشت جامد MS ۱/۲ حاوی ترکیب‌های هورمونی NAA، IBA، IAA (۱ میلی گرم در لیتر) و یا محیط کشت جامد MS ۱/۲ فاقد هورمون کشت گردیدند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان ریشه‌زایی در محیط کشت MS ۱/۲ فاقد هورمون و محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IAA و یا IBA با میانگین ۱۰۰ درصد ریشه‌زایی مشاهده گردید. نتایج مرحله سازگاری نیز نشان داد که بیشترین درصد سازگاری در بستر کشت پیت ماوس، کوکوپیت و قارچ کش (با میانگین ۹۰/۴۳) و کمترین درصد سازگاری در بستر کشت حاوی پرلیت (با میانگین ۴۷/۵) حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: باززایی، پرآوری، ریشه‌زایی، سازگاری، محیط کشت MS

### مقدمه

بریده در بین ۱۰ گل شاخه بریده برتر جهان قرار دارد. در سال ۱۹۹۶ ژربرا در بین گیاهان حاصل از کشت بافت در اروپا با ۱۷ میلیون گیاهچه مقام اول را داشت. در حال حاضر ژربرا در بیش از ۲۵ کشور دنیا پرورش داده می‌شود و حدود ۱۱۰۰ تا ۱۲۰۰ هکتار سطح زیر کشت گلخانه ای دارد. ۵۰ درصد سطح زیر کشت این گیاه در کشور هلند و ایتالیا است (۹ و ۱۱). سطح زیر کشت ژربرا در ایران در سال ۱۳۸۱ نزدیک به ۵ هکتار با تولید ۶/۷ میلیون شاخه گل گزارش شده است که در سال ۱۳۸۳، به ۷/۳ میلیون شاخه و در سال ۱۳۸۷ به ۱۳ هکتار با تولید بیش از ۲۹ میلیون شاخه گل رسیده است (۲۲ و ۲۳). مطالعات نشان می‌دهد عمومی ترین سیستم برای ازدیاد تجاری ژربرا ریزازدیادی است و روش های معمول تکثیر (تقسیم بوته و قلمه زدن) کارایی تامین تقاضای جهانی برای این گیاه را ندارد. از بذر نیز برای تکثیر این گیاه استفاده نمی‌شود زیرا علاوه بر طولانی بودن دوره رشد، باعث تولید جمعیت های هتروزیگوت با رنگ گل، اندازه و فرم

ژربرا از جمله گیاهان زینتی است که بیشترین سطح زیر کشت را در غرب اروپا دارد و سابقه کشت آن به منظور گل شاخه بریده به اوایل قرن بیستم در فرانسه بازمی‌گردد. اهمیت تجاری آن روز به روز در حال افزایش است، بنحوی که یکی از مهم‌ترین گل‌های شاخه

۱، ۲ و ۳- استادیاران پژوهشی گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی

\*- نویسنده مسئول: (Email: ma\_kh230@yahoo.com)

۴- استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۵- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۶- پژوهشگر، گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی  
DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.53432

۱۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA کشت کردند و بعد از ۴ هفته جوانه‌های باززایی شده را به محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA منتقل کردند و موفق به تولید شاخساره شدند. تیاجی و کوتاری (۲۵) برای باززایی سریع جوانه‌ها از ریزنمونه قطعات کاپیتول، از ترکیب هورمونی ۴ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA<sup>۵</sup> استفاده کردند و موفق به تولید ۲۰ تا ۲۵ شاخه از هر ریزنمونه شدند. رای و همکاران (۱۹) برای تکثیر ژبرها با استفاده از ریزنمونه کاپیتول از ترکیب هورمونی ۷ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA استفاده کردند و تعداد ۱۰ شاخه از هر ریزنمونه بدست آوردند. در تحقیقی دیگر مودح و همکاران (۱۴) ریزنمونه کاپیتول نابالغ را در محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA به همراه ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BA کشت کردند و موفق به باززایی و تولید شاخه شدند. غیور کریمیانی (۱۰) قطعات کاپیتول رقم رد اکسپلوزن را در محیط کشت MS تغییر یافته حاوی سطوح ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ<sup>۶</sup> کشت نمود و ۳۹ درصد شاخه‌زایی در دو سطح ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ مشاهده گردید.

در مرحله ریشه‌زایی ژبرها از تنظیم کننده‌های رشد مختلفی استفاده گردیده است. در پژوهش انجام شده توسط رینورد و همکاران (۲۰) اثر NAA<sup>۷</sup> و IAA بر ریشه‌زایی ژبرها در محیط کشت MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از اثر کمتر IAA نسبت به NAA بر میزان ریشه‌زایی بود. در تحقیقی دیگر ماریسکا و همکاران (۱۳) اثر IAA و NAA را روی رشد ریشه ژبرها مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمایش آن‌ها نشان داد که بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA حاصل می‌شود و تیمارهای دارای NAA باعث تولید ریشه‌های کوتاه و ضخیم می‌شود. نتایج تحقیق الیورا و همکاران (۱۵) بر ریشه‌زایی درون شیشه‌ای گیاهچه‌های ژبرها نیز نشان داد که IAA ریشه‌های کمتر و کوتاه‌تری نسبت به IBA<sup>۸</sup> تولید می‌کند.

با توجه به این که در حال حاضر بخش اعظم پایه‌های این گیاه از خارج از کشور تامین می‌شود، تامین آن در داخل از اهمیت زیادی برخوردار است و لذا به لحاظ اهمیت اقتصادی، تولید گیاهچه ژبرها از طریق کشت بافت در صدر اولویت‌های تحقیقاتی گیاهان زینتی ایران قرار دارد و ارائه دستورالعمل‌های تکثیر سریع و مقرون به صرفه این گیاه لازم و ضروری است. اگرچه گزارش‌های زیادی مبنی بر

متنوع می‌شود و گیاهان بدست آمده مشابه گیاه مادری نیستند (۱۱) و (۹). گیاه ژبرها تنوع رنگی بسیار زیادی دارد (بیش از ۸۰ تنوع رنگی) و متاسفانه ژنوتیپ‌های مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی به باززایی در شرایط این ویترو<sup>۱</sup> نشان می‌دهند. بطوری که لازم است شرایط کشت، نوع ریزنمونه مورد استفاده و زمان تهیه ریزنمونه برای هر ژنوتیپ بهینه شود و برای هر ژنوتیپ دستورالعملی جداگانه تهیه شود. از ریزنمونه‌ها (نوک شاخه، جوانه گل، برگ، ساقه، کاپیتول و...) و محیط کشت‌های مختلفی جهت ریزازدیادی ژبرها استفاده شده است. اما در تکثیر تجاری بیشتر از دو ریزنمونه نوک شاخه و کاپیتول نابالغ جهت تکثیر به روش شاخه‌زایی جانبی و ایجاد جوانه استفاده می‌شود (۲۰). از خصوصیات مهم این روش توانایی تکثیر تعداد زیاد گیاهچه و همچنین تولید کلون با خصوصیات یکسان می‌باشد.

از سوی دیگر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی همچون سیتوکنین‌ها و اکسین‌ها تاثیر قابل توجهی بر قدرت باززایی ریزنمونه‌ها دارا می‌باشند. از نقطه نظر تاثیر هورمون در ریزازدیادی گیاهان مختلف، بین سیتوکنین‌های مختلف تفاوت وجود دارد به طوری که در بسیاری از گیاهان BA<sup>۲</sup> بسیار مؤثرتر از کینتین، آدنین و زآتین است (۶). بلاکسلی و همکاران (۲) جذب و متابولیسم سیتوکنین را در باززایی شاخه ژبرها مورد بررسی قرار دادند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که سیتوکنین‌های طبیعی همانند زآتین نسبت به سیتوکنین‌های مصنوعی اثر کمتری در باززایی شاخه دارند. پارتاسارتی و ناگاراگو (۱۶) از محیط کشت MS<sup>۳</sup> (موراشی و اسکوگ، ۱۹۶۲) تغییر یافته حاوی غلظت‌های مختلف BA و ریزنمونه کاپیتول ژبرها ژنوتیپ گلداس استفاده کردند و گزارش نمودند که بیشترین تعداد شاخه باززایی شده در غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر BA تولید شد و شاخه‌های حاصله به طور موفقیت‌آمیزی در محیط کشت MS<sup>۱/۲</sup> ریشه‌دار شدند. در پژوهشی کاپیتول ارقام سفید، زرد و نارنجی ژبرها در محیط کشت MS تغییر یافته حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BA کشت گردیدند و پس از ۴۷ روز اولین گیاهچه‌ها از ارقام زرد و سفید و پس از ۶۵ روز گیاهچه‌هایی از رقم نارنجی باززا شدند. بین ارقام مورد بررسی، رقم نارنجی در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بهترین باززایی را نشان داد (۲۴). سوزک و همپل (۲۱) اثر کینتین، 2IP<sup>۴</sup> و BA را در دامنه ۱/۵ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بر باززایی رقم مارلین ژبرها مورد ارزیابی قرار دادند و بیشترین تعداد شاخه باززایی شده را در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین تولید نمودند. پوسادا و همکاران (۱۸) قطعات کاپیتول با قطر ۱ سانتی متر را در محیط کشت حاوی

5- 3-Indoleacetic acid

6- Thidiazuron

7- 1-Naphthylacetic acid

8 - Indole-3-butyric acid

1 - In Vitro

2- Benzyladenine

3- Murashige & Skoog

4- N<sup>6</sup>-(2-Isopentenyl) adenine

## بررسی اثر سطوح مختلف هورمون BA بر میزان پرآوری

### گیاهچه‌های باززایی شده ژبررا ژنوتیپ Sunway

نتایج آزمایش اول مؤید برتری ژنوتیپ Sunway در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها بود. لذا در این بخش از پژوهش به منظور تعیین غلظت بهینه BA، تنها پرآوری گیاهچه‌های این رقم مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این آزمایش گیاهچه‌های باززایی شده ژنوتیپ Sunway، در محیط کشت جامد MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون BA (۰، ۱، ۲ و یا ۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار و pH=۵/۷ کشت گردید. محیط کشت‌ها در ویال‌هایی به میزان ۱۵ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردیدند. پس از کشت، ریزنمونه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس) در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت ۳۰ روز پارامترهایی نظیر تعداد و طول گیاهچه‌های باززایی شده، وزن خشک، درصد ریشه‌زایی، طول و تعداد ریشه مورد ارزیابی قرار گرفت.

## بررسی اثر نوع هورمون اکسین بر میزان ریشه‌زایی

### ریزنمونه‌های تکثیر شده ژبررا ژنوتیپ Sunway

از آنجا که تولید ریشه در طول مرحله شاخه‌زایی در شرایط درون‌شیشه‌ای بسیار محدود است و یا اصلاً مشاهده نمی‌شود، بنابراین یک مرحله مجزا برای ریشه‌زایی در نظر گرفته می‌شود. مواد گیاهی لازم در این مرحله از ریزنمونه‌های رشد یافته ژبررا ژنوتیپ Sunway در مرحله پرآوری تهیه گردید و در محیط کشت جامد MS ۱/۲ حاوی ترکیب‌های هورمونی NAA، IAA، IBA (۱ میلی‌گرم در لیتر) و یا محیط کشت جامد MS ۱/۲ فاقد هورمون، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار، pH=۵/۷ کشت گردیدند. محیط کشت‌ها در ویال‌هایی به میزان ۱۵ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردید. شرایط نگهداری ریزنمونه‌های کشت شده، همانند مرحله پرآوری بود. در این آزمایش اثر ترکیب‌های هورمونی مختلف بر ریشه‌زایی گیاهچه‌های تولید شده با بررسی صفات تعداد و طول ریشه‌های تولید شده و درصد ریشه‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

## بررسی اثر بستر کشت‌های مختلف بر استقرار و سازگاری

### گیاهچه‌های باززایی شده ژبررا ژنوتیپ Sunway

پس از آنکه شاخه‌ها ریشه‌دار شده و به اندازه کافی رشد کردند تا بتوانند آب و املاح کافی را جذب کنند به خاک منتقل شدند. در این مرحله گیاهچه‌های ریشه‌دار از محیط کشت ریشه‌زایی خارج و پس از شستشوی ریشه‌ها و حذف تمام آگار از سطح ریشه‌ها و احیاناً سطح

ریزازدیادی آن وجود دارد ولی پروتکل‌های ارائه شده قابلیت بهره‌برداری نداشته و برای رسیدن به این دستورالعمل‌ها نیاز است محیط کشت‌های مختلف، ترکیب هورمونی محیط کشت، شرایط کشت و گیاه بهینه شود. لذا این آزمایش با هدف بررسی عوامل تاثیر گذار بر باززایی ژنوتیپ‌های مختلف گیاه ژبررا انجام گردید.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب چهار آزمایش جداگانه به شرح زیر انجام

شد:

### بررسی اثر نوع هورمون سیتوکینین و ژنوتیپ بر تکثیر درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های کاپیتول

به منظور اجرای این پژوهش ابتدا گیاهان شاداب، عاری از بیماری و در مرحله رشد فعال انتخاب و ریزنمونه‌های کاپیتول با قطر ۱/۵-۰/۵ سانتی‌متر از آنها تهیه و برای کشت آماده شدند. جهت ضدعفونی ابتدا ریزنمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری و چند قطره مایع شوینده رایج شستشو داده شدند تا گردوغبار و همچنین مواد زائد دیگر از سطح آن برطرف گردد. در مرحله بعد نمونه‌های مورد نظر ابتدا به محلول رقیق شده هیپوکلریت سدیم تجاری، حاوی ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه و سپس محلول حاوی ۰/۱ درصد کلرید جیوه به مدت ۱۰ دقیقه منتقل گردیدند. به منظور کاهش کیش سطحی و افزایش سطح تماس گیاه و ماده‌گندزدا، بسته به حجم محلول گندزدا ۲ تا ۳ قطره تیونین ۲۰ به محلول ضدعفونی اضافه شد. در پایان مدت ضدعفونی، ریزنمونه‌ها تحت شرایط استریل در زیر هود لامینار ۳ مرتبه در بازه‌های زمانی ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. پس از آن به منظور بررسی اثر نوع هورمون سیتوکینین بر تکثیر درون شیشه‌ای ارقام مختلف ژبررا، ریزنمونه‌های کاپیتول ارقام Sunway، Famous، Red Pearl، Pink، Snow، Popov، Balance، Dune، Eagle در محیط کشت جامد MS حاوی ترکیب‌های هورمونی BA، TDZ، 2IP و یا KIN (۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با IAA (۰/۲ میلی‌گرم در لیتر)، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار، pH=۵/۷ کشت گردیدند. محیط کشت‌ها در ویال‌هایی به میزان ۱۵ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو گردید. پس از کشت جهت القاء باززایی، ریزنمونه‌ها ابتدا به مدت یک ماه در شرایط تاریکی نگهداری شدند و پس از آن به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس) در دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. در پایان آزمایش عکس‌العمل ریزنمونه‌ها (درصد باززایی، تعداد برگ باززایی شده، تعداد گیاهچه باززایی شده و درصد ریزنمونه‌های قهوه‌ای شده) مورد ارزیابی قرار گرفت.

استفاده از نرم افزار JMP8 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت و نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند. تبدیل داده‌های درصدی با استفاده از فرمول  $[\text{ArcSin Sqrt}(X/100)]$  صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### بررسی اثر نوع هورمون سیتوکینین و ژنوتیپ بر تکثیر درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های کاپیتول

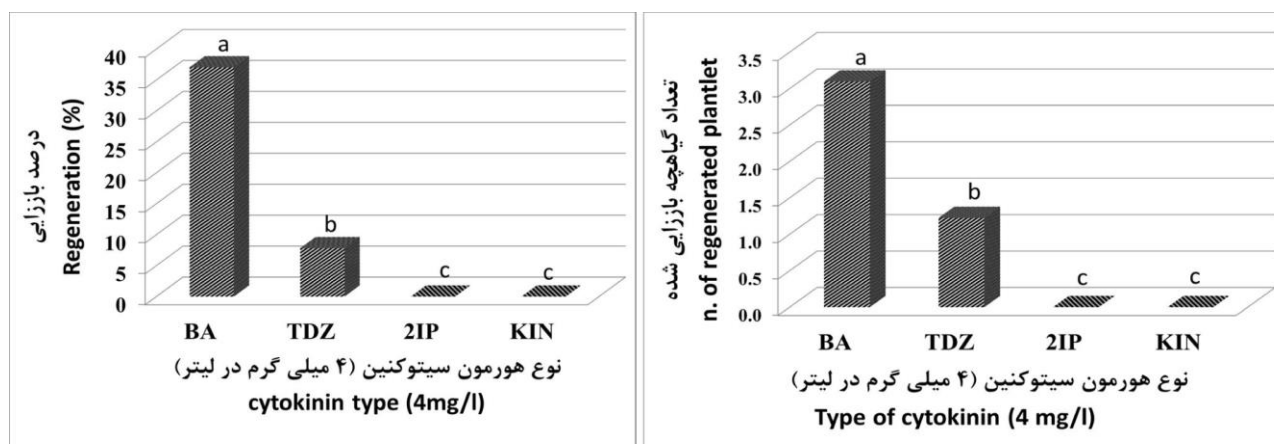
#### اثر نوع هورمون سیتوکینین بر صفات مورد ارزیابی

در ارزیابی اثر نوع سیتوکینین‌های مورد استفاده بر درصد باززایی و تعداد گیاهچه تولید شده، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. در بین سیتوکینین‌های مورد بررسی، BA با متوسط ۳۷ درصد باززایی و میانگین ۳/۰۹ گیاهچه برای هر ریزنمونه بهتر از TDZ با متوسط ۷/۸ درصد باززایی و میانگین ۱/۲۳ گیاهچه برای هر ریزنمونه بود. کاربرد سیتوکینین‌های 2IP و KIN پاسخ مناسبی را ایجاد نمود و علائم باززایی در ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت حاوی 2IP و یا KIN مشاهده نگردید (شکل ۱). مودح و همکاران (۱۴) بیشترین مقدار باززایی را با کاربرد ۴ میلی گرم در لیتر هورمون BA گزارش کردند. آنها توانستند در این محیط کشت حدود ۲/۳ شاخه برای هر ریزنمونه تولید کنند. در پژوهشی دیگر دویر و همکاران (۵) از محیط کشت MS حاوی ۴ میلی گرم در لیتر BA استفاده و موفق به باززایی ۲ شاخه در ۶۳ درصد ریزنمونه‌ها شدند. چاکرابارتی و داتا (۳) نیز در باززایی ریزنمونه کاپیتول، با کاربرد ترکیب هورمونی ۴ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IAA موفق به باززایی و تولید ۳ شاخه در هر ریزنمونه شدند.

برگ‌ها، گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک حاوی بستر کشت‌های مختلف شامل پرلیت؛ پرلیت : کوکوپیت به نسبت ۲:۱؛ کوکوپیت : پیت ماوس به نسبت ۱:۱ و کوکوپیت : پیت ماوس به نسبت ۱:۱ و اعمال تیمار قارچ‌کش کاربندازیم (۱ در هزار) منتقل شدند. از آنجا که گیاهچه‌ها در مراحل اولیه انتقال به خاک نسبت به آلودگی‌های باکتریایی و قارچی حساس هستند، بستر کشت‌های مختلف قبل از کشت کاملاً ضدعفونی (اتوکلاو) شدند. پس از انتقال گیاهچه‌ها به گلدان برای حفظ رطوبت و کمک به سازگاری آنها، لیوان‌های پلی اتیلن شفاف (یک بار مصرف) به صورت وارونه بر روی گلدان‌ها قرار داده شد. سپس در اتاقک رشد در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و در شرایط نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی قرار گرفتند. پس از گذشت چند روز برای سازگاری تدریجی گیاهان به رطوبت محیط هر روز سوراخی با قطر تقریبی ۲ تا ۳ میلی متر در لیوان ایجاد شد. این کار به مدت ۲ هفته ادامه پیدا کرد و به تدریج سوراخ‌ها به طرف قاعده لیوان نزدیک شدند. پس از دو هفته از کشت، لیوان‌ها ابتدا به مدت ۱ ساعت در روز از روی گلدان‌ها برداشته شدند و در روزهای بعد این زمان افزایش پیدا کرد و بالاخره پس از ۷ روز لیوان‌ها کاملاً از روی گلدان‌ها برداشته شدند. برای جلوگیری از پوسیدگی طوقه، آبیاری و تغذیه گیاهان از زیر گلدان‌ها انجام شد. برای تغذیه گیاهان محلول ۱/۲ MS هفته‌ای یکبار روی گلدان‌ها محلول پاشی شد.

### تجزیه و تحلیل‌های آماری

طرح آزمایشی مورد استفاده برای آزمایش اول فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تکرار و سایر آزمایش‌ها بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۷ تکرار بود (به جز آزمایش دوم که با ۱۰ تکرار بود). آماده‌سازی داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با



شکل ۱- اثر نوع هورمون سیتوکینین بر درصد باززایی و تعداد گیاهچه باززایی شده در ریزنمونه‌های کاپیتول ژبررا

Figure 1- Effect of cytokinin types on percentage of regeneration and number of plantlets of gerbera capitulum explant

از لحاظ تعداد گیاهچه تولیدی همانگونه که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد بیشترین تعداد گیاهچه تولیدی با میانگین ۲/۶۱ در ژنوتیپ Sunway مشاهده گردید. در ژنوتیپ Eagle به علت عدم مشاهده علائم باززایی، هیچگونه گیاهچه‌ای باززا نگردید و این ژنوتیپ کمترین میانگین را از این لحاظ به خود اختصاص داد. بین ژنوتیپ‌های Pink Snow و Dune از لحاظ تعداد گیاهچه تولیدی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

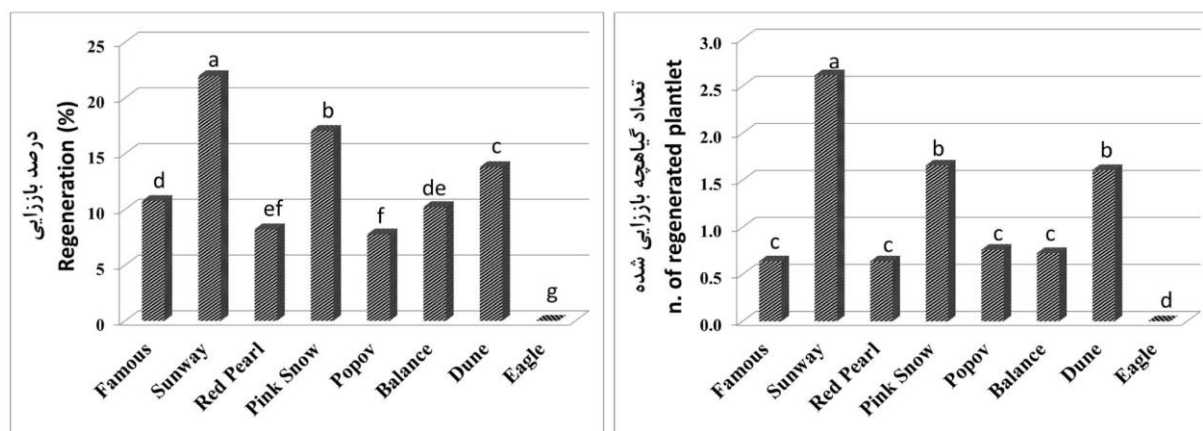
#### اثر متقابل ژنوتیپ و نوع هورمون سیتوکینین بر صفات مورد ارزیابی

نتایج نشان داد که اثر متقابل ژنوتیپ و نوع هورمون سیتوکینین بر درصد باززایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA در ژنوتیپ‌های Sunway و Pink Snow به ترتیب با میانگین ۶۸/۶۷ و ۵۸/۳۳ درصد باززایی، بیشترین درصد باززایی را در ریزنمونه‌های کاپیتول القا کردند. در تمامی ژنوتیپ‌های مورد استفاده، کاربرد هورمون‌های 2IP و KIN تاثیر مطلوبی بر باززایی ریزنمونه‌های کاپیتول نداشت و هیچگونه باززایی در محیط کشت‌های حاوی این هورمون‌ها صورت نگرفت. با کاربرد هورمون TDZ در مورد برخی از ارقام، علائم باززایی مشاهده گردید ولی با این حال کاربرد هورمون BA تاثیر مطلوب‌تری بر باززایی ریزنمونه‌های کاپیتول داشت. ژنوتیپ Eagle تنها ژنوتیپی بود که با کاربرد انواع مختلف هورمون سیتوکینین، هیچگونه علائم باززایی در آن مشاهده نگردید (جدول ۱).

در تحقیقی دیگر پوسادا و همکاران (۱۸) با کاربرد ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۴ میلی‌گرم در لیتر BA موفق به باززایی و تولید ۳/۲ شاخه در هر ریزنمونه شدند. نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که بیشترین درصد باززایی و تعداد گیاهچه باززایی شده در محیط کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA حاصل شد که با نتایج سایر محققان مطابق می‌باشد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که در محیط کشت MS حاوی BA، القاء شاخساره به میزان زیادی تحریک می‌گردد و مقایسه اثربخشی هورمون‌های مختلف جهت تشکیل شاخساره، ترتیب اثربخشی را بصورت ذیل مشخص می‌نماید: BA < Kin < 2ip (۸). برتری BA نسبت به سایر سیتوکینین‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای در ارتباط با گیاهان متعددی با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف گزارش شده است. ساختار پایدارتر ریبوزید و نوکلئوتید در هورمون BA نسبت به سایر سیتوکینین‌ها یکی از دلایل پاسخ عملکردی مناسب‌تر BA می‌باشد (۷).

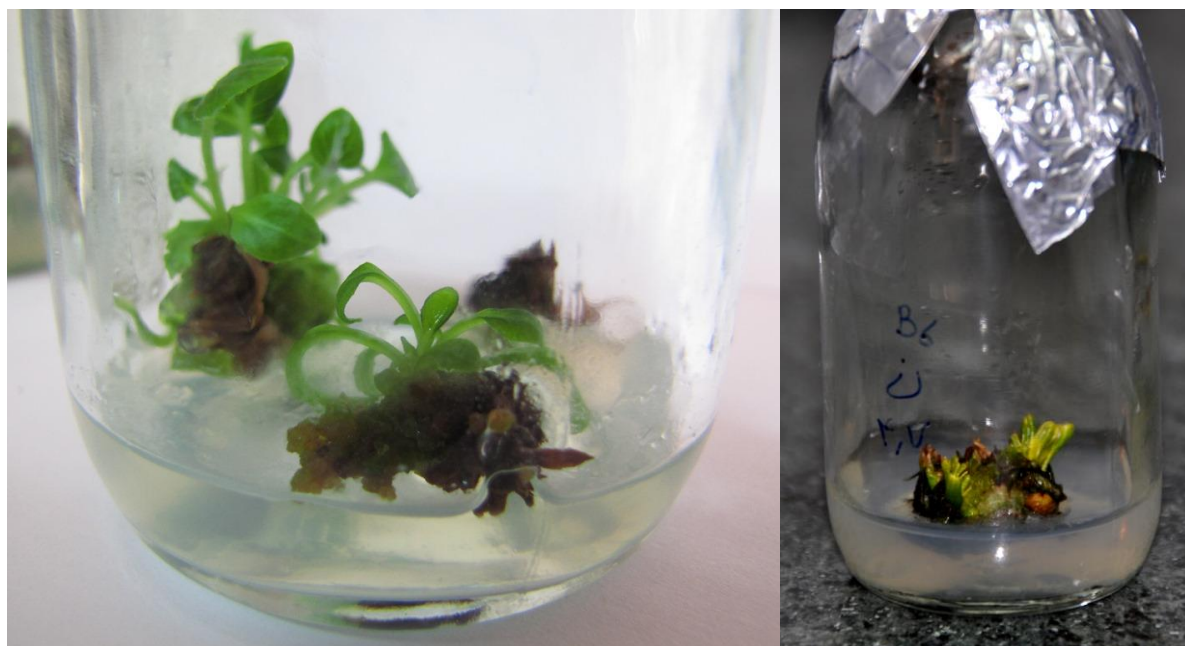
#### اثر ژنوتیپ بر صفات مورد ارزیابی

بررسی مقایسه میانگین داده‌های مربوط به باززایی نشان داد که ژنوتیپ تاثیر معنی‌داری بر درصد باززایی ریزنمونه‌های کاپیتول داشت ( $p \leq 0.05$ ). بیشترین درصد باززایی در ژنوتیپ Sunway (با میانگین ۲۱/۹۶ درصد) مشاهده گردید و پس از آن ژنوتیپ Pink Snow با میانگین ۱۷ درصد باززایی در رتبه دوم قرار گرفت. از سوی دیگر در ژنوتیپ Eagle هیچگونه علائم باززایی مشاهده نگردید (شکل ۲). محققان دیگر (۳، ۱۸ و ۲۶) نیز گزارش کردند که ژنوتیپ اثر معنی‌داری بر باززایی ریزنمونه کاپیتول در شرایط درون شیشه‌ای دارد.



شکل ۲ - اثر ژنوتیپ بر درصد باززایی و تعداد گیاهچه باززایی شده در ریزنمونه کاپیتول ژنوتیپ‌های مختلف ژربرا

Figure 2 - Effect of genotype on regeneration percentage and plantlets number of capitulum explant of different genotype of gerbera



شکل ۳- تصویر سمت راست: گیاهچه باززا شده ژربرا ژنوتیپ Sunway، تصویر سمت چپ: ریزنمونه کاپیتول ژربرا ژنوتیپ Sunway  
Figure 3- The right picture: plantlet regenerated of gerbera cv. Sunway, the left picture: capitulum explants of gerbera cv. Sunway

جدول ۱- برهمکنش نوع سیتوکنین × ژنوتیپ بر درصد باززایی ریزنمونه‌های کاپیتول ارقام مختلف ژربرا.

Table 1- Interaction effect of cytokinin types × genotypes on regeneration percentage of gerbera capitulum explants

| ژنوتیپ<br>Genotype | نوع هورمون سیتوکنین (۴ میلی گرم در لیتر)<br>Cytokinin type (4 mg/l) |        |         |          |
|--------------------|---|--------|---------|----------|
|                    | KIN   | 2IP    | TDZ     | BA       |
| Famous             | 0.00 h  | 0.00 h | 8.17 g  | 34.83 d  |
| Sunway             | 0.00 h  | 0.00 h | 19.17 f | 68.67 a  |
| Red Pearl          | 0.00 h  | 0.00 h | 0.00 h  | 32.83 d  |
| Pink Snow          | 0.00 h  | 0.00 h | 9.83 g  | 58.33 b  |
| Popov              | 0.00 h  | 0.00 h | 0.00 h  | 31.00 de |
| Balance            | 0.00 h  | 0.00 h | 0.00 h  | 40.83 c  |
| Dune               | 0.00 h  | 0.00 h | 25.33 e | 29.83 de |
| Eagle              | 0.00 h  | 0.00 h | 0.00 h  | 0.00 h   |

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different at  $p < 0.05$  based on Tukey's test.

هورمون سیتوکنین جهت باززایی ریزنمونه‌های کاپیتول ژربرا توصیه نمی‌گردد و بهترین نوع سیتوکنین جهت القاء باززایی در ریزنمونه‌های کاپیتول، هورمون BA می‌باشد.

رقم در باززایی ریزنمونه‌ها در ژربرا مؤثر است و هر رقم در شرایط درون شیشه‌ای پاسخی متفاوت از سایر ارقام نشان می‌دهد و نسبت بهینه تنظیم کننده‌های رشد برای باززایی شاخساره بستگی به زیادی به رقم دارد (۳، ۱۸ و ۲۶). در این بخش از پژوهش، بیشترین درصد باززایی و تعداد گیاهچه باززایی شده در محیط کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA حاصل شد. با توجه به اینکه BA باعث از بین رفتن

در رابطه با تعداد گیاهچه باززایی شده، عکس‌العمل ارقام نسبت به انواع مختلف سیتوکنین متفاوت بود. ژنوتیپ Sunway با میانگین ۶/۷۳ گیاهچه، بیشترین تعداد گیاهچه تولیدی را در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA تولید نمود. در رابطه با این ژنوتیپ، کاربرد محیط کشت حاوی هورمون TDZ با غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر، باعث کاهش تعداد گیاهچه تولیدی به ۳/۷۳ گیاهچه گردید ولی با این حال از نظر تعداد گیاهچه تولیدی در رتبه دوم قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که در محیط کشت حاوی 2IP و KIN هیچگونه گیاهچه‌ای باززا نگردید (جدول ۲). بنابراین کاربرد این دو نوع

غالبیت انتهایی و فعال شدن جوانه‌های جانبی می‌شود، به نظر می‌رسد کاربرد این هورمون می‌تواند باعث تحریک جوانه‌ها و تولید شاخه بیشتر گردد.

جدول ۲- برهمکنش نوع سیتوکینین × ژنوتیپ بر تعداد گیاهچه باززایی شده ریزنمونه‌های کاپیتول ارقام مختلف ژربرا.

Table 2- Interaction effect of cytokinin types × genotypes on number of regenerated plantlet of gerbera capitulum explants

| ژنوتیپ<br>Genotype | نوع هورمون سیتوکینین (۴ میلی‌گرم در لیتر)<br>Cytokinin type (4 mg/l) |        |         |         |
|--------------------|--|--------|---------|---------|
|                    | KIN  | 2IP    | TDZ     | BA      |
| Famous             | 0.00 e   | 0.00 e | 0.00 e  | 2.55 d  |
| Sunway             | 0.00 e   | 0.00 e | 3.73 b  | 6.73 a  |
| Red Pearl          | 0.00 e   | 0.00 e | 0.00 e  | 2.55 d  |
| Pink Snow          | 0.00 e   | 0.00 e | 2.98 cd | 3.65 b  |
| Popov              | 0.00 e   | 0.00 e | 0.00 e  | 3.04 c  |
| Balance            | 0.00 e   | 0.00 e | 0.00 e  | 2.90 cd |
| Dune               | 0.00 e   | 0.00 e | 3.09 c  | 3.34 bc |
| Eagle              | 0.00 e   | 0.00 e | 0.00 e  | 0.00 e  |

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

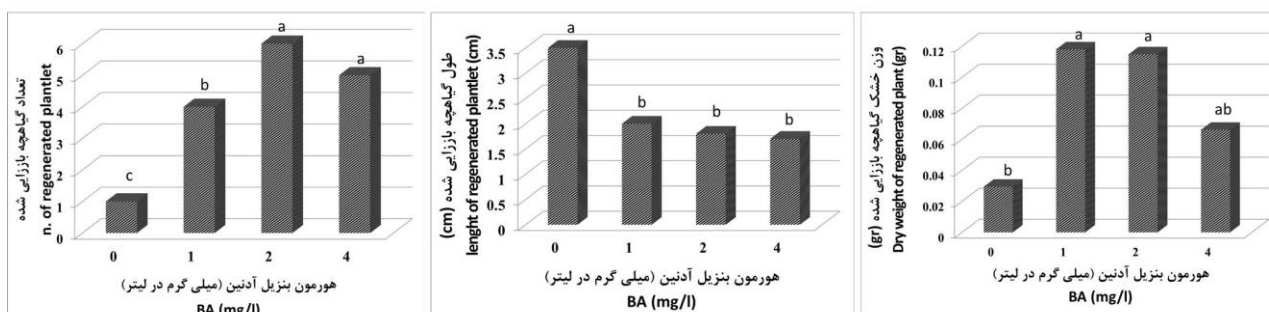
Means followed by the same letters are not significantly different at  $p < 0.05$  based on Tukey's test

محیط کشت MS فاقد هورمون با میانگین یک عدد گیاهچه باززایی شده، مشاهده گردید (شکل ۴).

در پژوهشی مودج و همکاران (۱۴) اثر سطوح ۲ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA را بر باززایی و تولید گیاهچه ژربرا مورد ارزیابی قرار دادند و بیشترین مقدار باززایی را در محدوده ۴ میلی‌گرم در لیتر این هورمون گزارش کردند. آنها توانستند در این محیط کشت حدود ۲/۳ شاخه برای هر ریزنمونه تولید نمایند. در پژوهشی دیگر دوبر و همکاران (۵) از محیط کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر BA استفاده و موفق به باززایی ۲ شاخه در ۶۳ درصد ریزنمونه‌ها شدند. از سوی دیگر دانیل و کوزمیچیک (۴) در پژوهش خود برای تکثیر شاخه‌های باززایی شده از ریزنمونه نوک ساقه از محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA استفاده کردند.

#### بررسی اثر سطوح مختلف هورمون BA بر میزان پرآوری گیاهچه‌های باززایی شده ژربرا ژنوتیپ Sunway

اثر سطوح مختلف هورمون بنزیل آدنین بر تمامی صفات مورد ارزیابی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بررسی مقایسه میانگین تعداد گیاهچه باززایی شده نشان داد که با افزایش سطح هورمون BA از صفر به ۲ میلی‌گرم در لیتر، تعداد گیاهچه باززایی شده از ۱ به ۶ افزایش یافت اما پس از آن با افزایش غلظت هورمون تا ۴ میلی‌گرم در لیتر، روند کاهشی از خود نشان داد. با این حال بین غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA از لحاظ تعداد گیاهچه باززایی شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بیشترین تعداد گیاهچه باززایی شده در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA با میانگین ۶ عدد گیاهچه باززایی شده و کمترین میزان آن در



شکل ۴- اثر غلظت هورمون بنزیل آدنین بر طول، تعداد و وزن خشک گیاهچه باززایی شده در گیاهچه‌های باززایی شده ژربرا ژنوتیپ Sunway

Table 4- Effect of BA concentrations on length, number and dry weight of gerbera cv. Sunway regenerated plantlets





شکل ۵- اثر غلظت هورمون بنزیل آدنین بر گیاهچه باززایی شده ژبربا ژنوتیپ Sunway  
تصویر سمت راست: ۲ میلی گرم در لیتر و تصویر سمت چپ: ۱ میلی گرم در لیتر  
Figure 5- Effect of BA concentrations on regenerated plantlet of Sunway genotype.  
Right picture: 2 mg/l and the left picture: 1 mg/l

نقش مشخص سیتوکنین‌ها در قابلیت تحریک، تکثیر و تقسیم سلولی در بافت‌های ریزنمونه مورد کشت و در نتیجه تشکیل اندام (اندام زایی) در بافت‌های تیمار شده می‌باشد. در این آزمایش غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA موجب پرآوری قابل قبولی در ریزنمونه‌های گیاه ژبربا گردید. با این حال با بررسی تحقیقات انجام شده مشخص گردید که برای پرآوری مناسب، برخی از محققین غلظت‌های بالاتری از سیتوکنین‌ها را برای افزایش تعداد شاخساره پیشنهاد داده‌اند. ولی در پرآوری ژبربا کاربرد سیتوکنین متجاوز از سطوح بحرانی از تشکیل شاخساره سالم جلوگیری می‌کند (۳). شایان ذکر است یافتن مناسب‌ترین غلظت هورمونی برای مراحل باززایی و پرآوری مستلزم در نظر گرفتن مزایا و معایب استفاده از غلظت‌های هورمونی بالاست، زیرا اگرچه در مواردی غلظت‌های بالای هورمونی کمک به تسریع باززایی یا افزایش شاخه‌زایی می‌کند، اما در مواردی موجب افزایش تنوع سوماکلونال، شیشه‌ای شدن و ایجاد گیاهان بدشکل می‌کند. بنابراین محقق بایستی همواره عواملی چون صرفه اقتصادی و سلامت گیاه تولید شده را نیز در نظر بگیرد. با در نظر گرفتن این نکته، غلظت بهینه بنزیل آدنین برای تولید حداکثر پرآوری شاخساره‌های سالم در گیاه ژبربا، غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر آن می‌باشد.

#### بررسی اثر نوع هورمون اکسین بر میزان ریشه‌زایی ریزنمونه‌های تکثیر شده ژبربا ژنوتیپ Sunway

بر اساس نتایج بدست آمده اثر نوع هورمون اکسین بر تمامی صفات مورد آزمایش در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بررسی

ارزایی اثر غلظت‌های مختلف هورمون BA بر طول گیاهچه باززایی شده نشان داد که با افزایش غلظت هورمون BA از صفر به ۴ میلی‌گرم در لیتر، طول گیاهچه باززایی شده از ۳/۵ سانتی‌متر به ۱/۷ سانتی‌متر کاهش یافت. اما بین غلظت‌های ۱ تا ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA از این لحاظ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از لحاظ وزن خشک گیاهچه‌های باززایی شده نیز بین سطوح مختلف هورمون BA اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید ( $p \leq 0.05$ ) و با افزایش غلظت هورمون تا ۲ میلی‌گرم در لیتر، وزن خشک تولید شده نیز افزایش یافت و پس از آن روند کاهشی از خود نشان داد (شکل ۴). از آنجا که بین وزن خشک گیاهچه تولید شده و تعداد گیاهچه باززایی شده همبستگی مثبتی وجود دارد، بنابراین طبیعی به نظر می‌رسد که با مشاهده روند کاهشی تعداد گیاهچه باززایی شده در غلظت ۲ تا ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA، وزن خشک تولید شده نیز کاهش یابد.

همبستگی مثبتی بین افزایش غلظت BA تا حد مطلوب و تعداد شاخساره باززایی شده گزارش شده است ولی غلظت‌های بالاتر از حد مطلوب اثرات نامطلوبی بر القاء شاخساره، میزان پرآوری و ارتفاع گیاهچه‌های تکثیر شده دارد و گیاهچه‌هایی با حالت بوته‌ای ایجاد می‌گردد. کاهش در پتانسیل باززایی به نظر می‌رسد به علت اثرات نامطلوب غلظت‌های بالای هورمون بر سلول‌های از پیش تعیین شده جهت تشکیل جوانه‌های رویشی باشند (۷ و ۸).

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که افزوده شدن BA به محیط کشت و همچنین غلظت مناسب آن موجب افزایش پرآوری شاخساره‌ها در مقایسه با محیط فاقد هورمون می‌گردد. در محیط فاقد هورمون سیتوکنین باززایی بخوبی صورت نگرفته و این نشان دهنده

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به درصد ریشه‌زایی نشان داد که کاربرد انواع مختلف اکسین تاثیر معنی‌داری بر میزان ریشه‌زایی گیاهچه‌ها داشت بطوریکه بیشترین میزان ریشه‌زایی در محیط کشت MS ۱/۲ فاقد هورمون و محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IAA و یا IBA با میانگین ۱۰۰ درصد ریشه‌زایی مشاهده گردید. این در حالی است که میزان ریشه‌زایی در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون NAA برابر با ۵۵ درصد بود (جدول ۳). چنین به نظر می‌رسد که کاربرد هورمون NAA در ترکیب محیط کشت، تاثیرات کمتری را بر ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززایی شده ژبربا داشت.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین تیمارهای مختلف هورمون اکسین از لحاظ تعداد ریشه اصلی و فرعی تولیدی اختلاف معنی‌داری

مشاهده گردید. بیشترین تعداد ریشه اصلی (۵/۵۳) در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA مشاهده گردید و کمترین میزان آن در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون NAA با میانگین ۱/۸۷ مشاهده گردید. از لحاظ تعداد ریشه فرعی تولیدی نیز بیشترین میزان آن در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IBA (۳/۰۱) مشاهده گردید ولی با این حال بین محیط کشت MS ۱/۲ فاقد هورمون و محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IAA و یا IBA اختلاف معنی‌داری از این لحاظ مشاهده نشد. از سوی دیگر، در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون NAA هیچگونه ریشه فرعی تولید نگردید که اختلاف ایجاد شده نسبت به سایر ترکیبات مورد استفاده معنی‌دار بود (جدول ۳).

جدول ۳- اثر نوع هورمون اکسین بر میزان ریشه‌زایی ریزنمونه‌های تکثیرشده ژبربا ژنوتیپ Sunway

| نوع هورمون اکسین    | طول ریشه         | تعداد ریشه فرعی      | تعداد ریشه اصلی   | درصد ریشه‌زایی |
|---------------------|------------------|----------------------|-------------------|----------------|
| Type of auxin       | Root length (cm) | n. of secondary root | n. of origin root | Rooting (%)    |
| MS 1/2 + ∅          | 4.84 a           | 2.32 a               | 3.47 b            | 100.00 a       |
| MS 1/2 + 1 mg/l IBA | 4.25 a           | 3.01 a               | 5.53 a            | 100.00 a       |
| MS 1/2 + 1 mg/l IAA | 4.42 a           | 2.54 a               | 4.34 b            | 100.00 a       |
| MS 1/2 + 1 mg/l NAA | 0.77 b           | 0.00 b               | 1.87 c            | 55.00 b        |

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means within the column followed by the same letters are not significantly different at  $p < 0.05$  based on Tukey's test

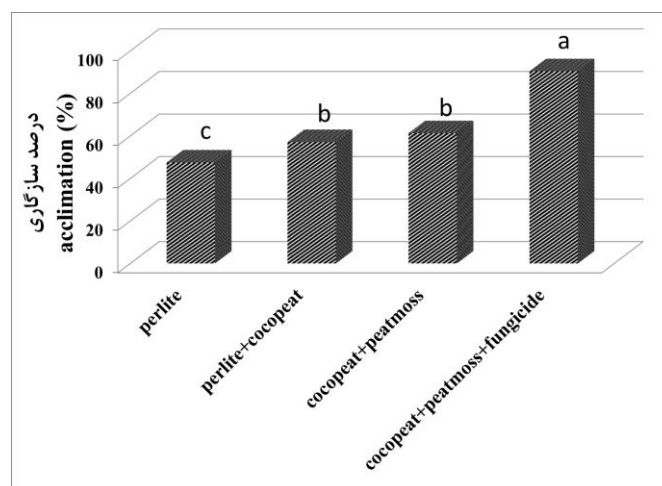
لیتر هورمون IAA مشاهده گردید که با نتایج پژوهش محققان مطابق می‌باشد.

در طی مراحل ریزازدیادی، ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است و عدم ریشه‌زایی مناسب، سازگاری گیاهچه‌های تولید شده را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. از آنجائیکه برخی از ژنوتیپ‌ها ریشه‌زایی مطلوبی را از خود نشان نمی‌دهند، بنابراین تشکیل ریشه‌های نابجا در شرایط کشت بافت یکی از موضوعات اساسی طی مراحل ریزازدیادی می‌باشد. ریشه‌زایی بعنوان یک مرحله مجزا در نظر گرفته می‌شود که در این مرحله اکسین‌ها نقش اساسی را ایفا می‌کنند (۸). با این حال نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که گیاه ژبربا دارای پتانسیل ریشه‌زایی بالایی بوده، بطوریکه در محیط کشت بدون هورمون اکسین نیز براحتی ریشه تولید می‌نماید. احتمالاً گیاه ژبربا با برخورداری از اکسین درونی بالا براحتی قادر به تولید ریشه در محیط کشت مغذی می‌باشد. بنابراین جهت تکثیر تجاری، به منظور کاهش هزینه‌های تولیدی، کاربرد محیط کشت MS ۱/۲ جهت ریشه‌زایی گیاه ژبربا توصیه می‌گردد.

ارزیابی اثر نوع هورمون اکسین بر طول ریشه‌های تولیدی نشان داد که بین انواع مختلف هورمون اکسین از این لحاظ اختلاف معنی‌داری وجود دارد بطوریکه طویل‌ترین ریشه‌های تولیدی در محیط کشت MS ۱/۲ فاقد هورمون با میانگین ۴/۸۴ سانتی متر مشاهده گردید. با این حال بین محیط کشت MS ۱/۲ فاقد هورمون و محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون IAA و یا IBA از لحاظ طول ریشه تولیدی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و کمترین میزان طول ریشه تولیدی (۰/۷۷ سانتی متر) در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هورمون NAA حاصل گردید (جدول ۳).

در تحقیقی سوزک و همپل (۲۱) در مرحله ریشه‌زایی اثر سطوح مختلف IAA و NAA را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که IAA از نظر تعداد و طول ریشه، ریشه‌های بیشتر و بلندتری نسبت به NAA تولید می‌کند. غیور کریمیانی (۱۰) برای ریشه‌دار کردن شاخه‌ها از محیط کشت MS بدون هورمون استفاده کرد. محققانی دیگر نظیر البورا و همکاران (۱۵) نیز ریشه‌زایی در محیط کشت MS بدون هورمون را گزارش کردند. نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که بهترین عکس‌العمل گیاهچه‌ها از نظر ریشه‌زایی در محیط کشت های MS ۱/۲ فاقد هورمون و محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ۱ میلی گرم در

کشت پیت ماوس، کوکوپیت و قارچ‌کش (با میانگین ۹۰/۴۲) و کمترین درصد سازگاری در بستر کشت حاوی پرلیت (با میانگین ۴۷/۵) حاصل شد. بین بسترهای کشت کوکوپیت همراه با پرلیت و کوکوپیت با پیت ماوس اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان سازگاری مشاهده نگردید (شکل ۶).



شکل ۶- اثر بستر کشت بر میزان سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی ژبررا ژنوتیپ Sunway در شرایط برون شیشه‌ای

Figure 6- Effect of medium on acclimation of *in vitro* plantlet of gerbera cv. Sunway

هورمون IAA حاصل شد. با توجه به اینکه BA باعث از بین رفتن غالبیت انتهایی و فعال شدن جوانه‌های جانبی می‌شود، به نظر می‌رسد افزایش غلظت این هورمون تا حد مطلوب باعث تحریک جوانه‌ها و تولید شاخه بیشتر می‌شود. در مرحله پرآوری، افزودن BA به محیط کشت و همچنین غلظت مناسب آن موجب افزایش پرآوری شاخساره‌ها در مقایسه با محیط فاقد هورمون می‌گردد. در این آزمایش غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA موجب پرآوری قابل قبولی در ریزنمونه‌های گیاه ژبررا گردید. اثر رقم در باززایی ریزنمونه‌ها مؤثر می‌باشد و هر رقم در شرایط درون شیشه‌ای پاسخی متفاوت از سایر رقم‌ها نشان می‌دهد و نسبت بهینه تنظیم کننده‌های رشد برای باززایی شاخساره بستگی زیادی به رقم دارد. نتایج این آزمایش نشان داد که گیاه ژبررا دارای پتانسیل ریشه‌زایی بالایی بوده، بطوریکه در محیط کشت بدون هورمون اکسین نیز براحتی ریشه تولید می‌نماید. بنابراین جهت تکثیر تجاری، به منظور کاهش هزینه‌های تولیدی، کاربرد محیط کشت MS ½ جهت ریشه‌زایی گیاه ژبررا توصیه می‌گردد. در پایان آزمایش نیز سازگاری گیاهچه‌های تکثیر شده در بستر کشت پیت ماوس، کوکوپیت و قارچ‌کش با میانگین ۹۰/۴۲، با موفقیت در شرایط گلخانه انجام شد.

## بررسی اثر بستر کشت‌های مختلف بر استقرار و سازگاری

### گیاهچه‌های باززایی شده ژبررا ژنوتیپ Sunway

بر اساس نتایج بدست آمده، اثر نوع بستر کشت بر درصد سازگاری نمونه‌های سازگار شده معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که بیشترین درصد سازگاری در بستر

ریزورد و همکاران (۲۰) گزارش کردند که بهترین بستر کشت جهت سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی ژبررا، بستر کشت پیت و پرلیت به نسبت مساوی ۱:۱ می‌باشد. نتایج پژوهش آنها نشان داد که انتقال گیاهان به این بستر به میزان صد در صد موفقیت آمیز بوده است. پترو و ماتوس (۱۷) نیز با استفاده از همین نسبت پیت: پرلیت استقرار خوبی را گزارش کردند. لالیبرته و همکاران (۱۲) گیاهان ریشه‌دار شده را در گلدان‌های محتوی پیت: پرلیت کشت کردند. پس از استقرار گیاهان در این بستر و سازگاری آنها با شرایط محیطی آنها را به گلخانه و بستر کشت پرلیت منتقل کردند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که ۹۵ درصد گیاهان منتقل شده به گلخانه با شرایط جدید سازگار شدند. آسوات و کوهاری (۱) از کوکوپیت، خاک سرخ و شن به نسبت ۳:۱:۱ استفاده نمودند. نتایج آزمایش آنها حاکی از استقرار صد در صدی گیاهچه‌های انتقال یافته بود.

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در مرحله القاء، بیشترین درصد باززایی و تعداد گیاهچه باززایی شده در محیط کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر

## منابع

- 1- Aswath C., and Choudhary M.L. 2002. Rapid plant regeneration from *Gerbera jamesonii* Bolus callus cultures. Acta Botanica Croatica, 61: 125-134.
- 2- Blakesly D., Lenton J., and Horgan R. 1987. Cytokinin uptake and metabolism in relation to Gerbera shoot multiplication in vitro. Plant Growth Regulator Group 28, 87-99.
- 3- Chakrabarty D., and Datta S.K. 2008. Micropropagation of Gerbera: lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process. Acta Physiologiae Plantarum, 30:325-331.
- 4- Daneila H., and Kuzmicic I. 1993. The effects of Genotype on Gerbera shoot multiplication in vitro. Acta Botanica. 52:25-32.
- 5- Dewir Y.H., Chakrabarty D., Hahn E.J., and Paek K.Y. 2006. A simple method for mass propagation of spathiphyllum using an air-lift bioreactor. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant. 42: 291-297.
- 6- Evaldsson I.E. and Welander N.T. 1985. The effects of medium composition on in vitro propagation and in vitro growth of *Cordyline terminalis* cv. Atoom. The Journal of Horticultural Science & Biotechnology. 60: 525-530.
- 7- Fatima, N., Ahmad, N., Ahmad, I., Anis, M. 2015. Interactive Effects of Growth Regulators, Carbon Sources, pH on Plant Regeneration and Assessment of Genetic Fidelity Using Single Primer Amplification Reaction (SPARS) Techniques in *Withania somnifera* L. Applied biochemistry and biotechnology, 177:118-136.
- 8- Fatima, N., Anis, M. 2012. Role of growth regulators on in vitro regeneration and histological analysis in Indian ginseng (*Withania somnifera* L.) Dunal. Physiology and molecular biology of plants, 18(1):59-67.
- 9- Gerado M. 2002. Gerbera cultivation in greenhouse. Schreurs the Netherland.
- 10- Ghayur karimiyani z. 1386. Tissue Culture of Gerbera (*Gerbera jamesonii*) and investigation the possibility of using oryzalin for producing of tetraploid plant. MSc Thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
- 11- Kanwar J.K. and Kumar S. 2008. In vitro propagation of Gerbera - A Review. Horticultural Sciences (Prague), 35: 35-44.
- 12- Laliberté S., Chrétien L. and Vieth J. 1985. In vitro plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. Hortscience, 20: 137-139.
- 13- Mariska I., Gati E. and Sukmadja D. 1989. In vitro clonal propagation of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Buletin Penelitian Horticulture, 17(4): 34-43.
- 14- Modh F.K., Dhaduk B.K. and Shah R.R. 2002. Factors affecting micropropagation of gerbera from capitulum explants. Journal of Ornamental Horticulture, 5: 4-6.
- 15- Olivera O.V.Z., Gutierrez E.M.A. and Andrade R.M. 2000. In vitro culture of gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) and its acclimatization in greenhouse. Bioagro., 12:75-80.
- 16- Parthasarthy V.A. and Nagaraju V. 1999. In vitro propagation in *Gerbera jamesonii* Bolus. Indian Journal of Horticulture, 56: 82-85.
- 17- Petru E. and Matous J. 1984. In vitro cultures of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus). Sborník ÚVTIZ Zahradnictví. 11: 309-314.
- 18- Posada M., Ballesteros N., Obando W. and Angarita A. 1999. Micropropagation of gerbera from floral buds. Acta Horticulturae. 482: 329-331.
- 19- Ray T., Saha P. and Roy S.C. 2005. In vitro plant regeneration from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii*. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 6: 35-40.
- 20- Reynoird J.P., Chriqui D., Noin M., Brown S. and Marie D. 1993. Plant propagation from in vitro leaf culture of several gerbera species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 33: 203-210.
- 21- Soczek U. and Hempel M. 1986. Some aspects influencing the efficiency of Gerbera micropagation. Prace Inst. Sadowni Ctwo Rosliny Oadobne, 11:117-124.
- 22- Statistics of Agriculture, Volume II. 1381. Agriculture and horticulture, sericulture, livestock, poultry and aquaculture, natural resources, rural development and organization of tribes, extension and education, agriculture and rural cooperation. Publications Office of Statistics and Information Technology of the Ministry of Agriculture (in Persian).
- 23- Statistics of Agriculture, Volume II. 1383. Agriculture and horticulture, livestock and poultry, aquaculture, natural resources, rural industries, the tribes, and the promotion of farming systems, training, research and rural cooperation. Publications Office of Statistics and Information Technology of the Ministry of Agriculture (in Persian).
- 24- Topoonyanont N. and Dillen W. 1988. Capitulum explants as a start for micropropagation of gerbera; culture technique and applicability. Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent. 53: 169-173.
- 25- Tyagi P. and Kothari S.L. 2004. Rapid in vitro regeneration of *Gerbera jamesonii* (H. Bolus ex Hook f.) from different explants. Indian Journal of Biotechnology, 3: 584-586.
- 26- Verma N. and Anand A. 2006. Micropropagation of *Gerbera jamesonii* (Bolus) on different culture media. Advances in Plant Sciences, 19: 19-22.

## Effect of different Genotypes, Cytokinins and Auxins on *In vitro* Capitulum Regeneration of Gerbera (*Gerbera jamesonii*)

A. Sharifi<sup>1</sup>- M. Kharrazi<sup>2\*</sup> - F. Keykha<sup>3</sup> - A. R. Bagheri<sup>4</sup> - E. Samari<sup>5</sup> - Maryam Moradian<sup>6</sup>

Received: 29-02-2016

Accepted: 09-10-2016

**Introduction:** Gerbera is one of the most important ornamental plants in the world. The importance of Gerbera is due to its beauty, diversity and economically aspects. Traditional propagation methods such as crown division and cutting methods are not suitable for obtaining disease free plants and rapid multiplication. These methods also do not have the capacity to fulfill global demands. Therefore, obtaining efficient protocol for micropropagation of this ornamental plant is necessary.

**Materials and Methods:** In this study the effect of various factors on *in vitro* regeneration, proliferation, rooting and acclimation of gerbera capitulum explants were analyzed in four separate experiments. Capitulum explants were first washed with running tap water for 30 min then surface sterilized by dipping in 1.5% sodium hypochlorite solution for 15 min and rinsed with sterile distilled water, followed by immersing in 0.1 % mercuric chloride solution for 10 min. To remove mercuric chloride residue, capitulum was rinsed with sterile distilled water. Subsequent washing was done with sterile distilled water for three times. Sterilization steps were done under laminar air flow hood. For regeneration, eight genotypes of gerbera capitulum explants (Famous, Sunway, Red Pearl, Pink Snow, Popov, Balance, Dune, Eagle) were cultured on solid MS medium containing several cytokinins, BA, TDZ, 2IP or KIN (4 mg/l) in combination with IAA (0.2 mg/l). In proliferation stage, the effect of different concentrations of BA was evaluated on proliferation rate of Sunway regenerated explants. In the rooting stage, Sunway genotype plantlets were cultured on ½ MS medium containing NAA, IBA or IAA (1 mg/l) or ½ MS medium without any hormones. The pH of the medium was adjusted to 5.7-5.8 prior to autoclaving (15 min at 121 °C and 1.5 kg.cm<sup>-2</sup> pressure). The cultures were incubated in a growth chamber at 25±2 °C with a 16-h photoperiod (2500-3000 Lux) provided by cool-white fluorescent lamps. For acclimation of rooted plantlets, different substrates used as follow: 1- perlite, 2- perlite: Cocopeat, 3- Cocopeat: peat moss, 4- Cocopeat: peat moss; treated with fungicide.

After 30 days, the response of explants was evaluated for each experiment. Data preparation was done in the Excel program and data analysis was done using JMP-8 software. Mean comparison of the treatments was done by Tukey test and finally the charts were drawn using the Excel program.

**Results and Discussion:** The results of regeneration stage showed that application of MS media containing kinetin or 2IP did not make an appropriate response to capitulum explants and no regeneration was observed in this condition. The medium containing 4 mg/l BA and 0.2 mg/l IAA indicated the highest percentage of regeneration in all genotypes.

The highest regeneration was observed in Sunway genotype with an average of 21.96%. On the other hand no regeneration was observed in Eagle genotype. In terms of the number of regenerated plantlet, the highest number (61.2) was attributed to the Sunway genotype while no plantlet was recorded for Eagle genotype. No significant differences were also observed between Pink Snow and Dune genotypes.

For the proliferation stage, only Sunway genotype was utilized due to its vigorous growth in comparison to other genotypes. In this stage, the highest (6 regenerated plantlets) and the lowest (1 regenerated plantlet) regeneration rate were observed in MS medium containing 2 mg/l BA and hormone-free medium, respectively. Hormone-free ½ MS medium and ½ MS medium containing 1 mg/l IAA or IBA, indicated the highest rooting

1, 2 and 3 - Research Assistant, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research: ACECR, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Iran

(\*-Corresponding Author Email: ma\_kh230@yahoo.com)

4 - Professor, Department of Biotechnology and Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

5- PhD Student of Plant Physiology, Biological Sciences Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

6- Researcher, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research: ACECR, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Iran

rate (100% rooting) while medium containing 1 mg/l NAA showed 55% rooting rate. It seems that the application of NAA in the medium composition had the lowest impact on the rooting of regenerated plantlets. At the end of the experiment, the highest (90.42%) and the lowest (47.5%) acclimation rate was obtained in peat moss + cocopeat + fungicide medium and perlite medium, respectively.

**Conclusions:** Generally, for shoot induction of gerbera through capitulum culture, application of MS medium containing 4 mg/l BA and 0.2 mg/l IAA is recommended. It is also concluded that for proliferation stage, the MS medium containing 2 mg/l BA showed the highest rate of regeneration. Using of Hormone-free ½ MS medium is economically affordable. Finally for acclimation of the plantlets, application of peat moss + cocopeat + fungicide medium is recommended.

**Keywords:** Acclimation, MS medium, Proliferation, Regeneration, Rooting

## بررسی چگونگی پاسخ‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی چمن بومی جنس آگروپرون به تنش رطوبتی

مهدی یعقوبی<sup>۱</sup> - مهدی پارسا<sup>۲\*</sup> - علی گزانجیان<sup>۳</sup> - حمیدرضا خزاعی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۹

### چکیده

از مهم‌ترین مشکلات در جهت توسعه فضای سبز و چمن کاری، کمبود منابع آبی می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی عملکرد و مقاومت چمن‌های بومی در برابر تنش رطوبتی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان به اجرا در آمد. گونه‌های مختلف چمن بومی آگروپرون شامل *A. cristatum*، *A. desertorum*، *A. elongatum* و *Super sport* و ۳ سطح تنش شامل تنش شدید (۴۵ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و شاهد (۸۵ درصد ظرفیت زراعی) تیمارهای آزمایش را تشکیل می‌دادند. نتایج آزمایش نشان داد که تحت شرایط تنش رطوبتی گونه بومی *A. elongatum* بیشترین طول برگ، میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل، پرولین و محتوای آب نسبی برگ (RWC) را با ۸۲/۱۲ درصد و کمترین میزان را چمن سوپر اسپورت به خود اختصاص داد. کمترین نشت یونی با ۱۷/۹۱ درصد نیز در گونه *A. elongatum* مشاهده شد. می‌توان گفت گونه‌های چمن بومی مقاومت بیشتری نسبت به چمن وارداتی تحت شرایط خشکی داشتند و بهترین کیفیت ظاهری در ۲ گونه بومی *A. elongatum* و *A. desertorum* تحت تنش ۶۵ درصد ظرفیت زراعی رویت شد.

**واژه‌های کلیدی:** ظرفیت زراعی، گونه‌ها، کلروفیل، پرولین، محتوای آب نسبی برگ، کیفیت طاهری

### مقدمه

فاکتور عمده محدودکننده توزیع، رشد و بازدهی گونه‌های مختلف چمن می‌باشد. در کشورهایی نظیر ایران که آب و هوای خشک دارند، نیاز به مراقبت زیاد داشته و هزینه نگهداری آن بسیار بالا می‌باشد. تنش خشکی باعث کاهش فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، بیوماس، رشد و در نهایت عملکرد گیاه می‌شود (۱، ۷ و ۳۱). کارچر و همکاران نشان دادند در بین ارقام تال فسکیو، رقم Millennium و Rebel<sup>۱</sup> به ترتیب بهترین و بدترین عملکرد و کیفیت را در مواجهه با تنش داشتند (۲۵ و ۲۶). در گیاهان گرامینه، خشکی باعث طولی شدن میانگره‌ها می‌شود (۴۰). در بسیاری از گراس‌های مقاوم به خشکی، کاهش رشد در اندام هوایی و افزایش وزن ریشه در پاسخ به تنش خشکی اتفاق می‌افتد. در پژوهشی دیگر نشان داده شد که چمن چاوداری (*Lolium perenne*) و علف گندمی (*Agropyron*) نسبت به تنش خشکی دارند (۳۰). در مطالعه باستوک و بایوکتاس (*desertorum*) و بروموس (*Bromus inermis*) مقاومت بالایی نسبت به تنش خشکی دارند (۳۰). در مطالعه باستوک و بایوکتاس تنش آبیاری منجر به کاهش یکنواختی و کاهش درصد پوشش سطح چمن شد (۵). مگنی و همکاران (۲۹) نشان دادند که بافت سبک شنی منجر به افزایش پوشش سطحی چمن و میزان عبور بهتر آب در

چمن که از دیرباز به عنوان یکی از مهمترین گیاهان پوششی شناخته شده، از اجزای اصلی و جدا نشدنی فضاهای سبز بوده و از عناصر اصلی و جزء لاینفک طراحی فضای سبز به شمار می‌آید (۳۳). از مهم‌ترین موارد کاربرد چمن می‌توان به ایجاد زمین‌های ورزشی و بازی، فضای سبز پارک‌ها و مناطق مسکونی، کاشت در بزرگراه‌ها به منظور دفع مواد سمی حاصل از سوخت و سائل نقلیه، افزایش تولید اکسیژن و تهویه هوا و جلوگیری از فرسایش خاک و تبخیر شدید آب از سطح زمین اشاره کرد (۳۰). نکته مهم در مورد چمن این است که این گیاه نیاز به آبیاری زیاد دارد. در واقع مقدار آب قابل دسترس، یک

۱ و ۲ - به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

\* - نویسنده مسئول: (Email: parsa@um.ac.ir)

۳ - دانشیار، بخش جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.56268

بهینه از منابع گیاهی و آبی ضروری می‌باشد که در این بین راهکار شناسایی و استفاده از گونه‌های مقاوم به خشکی، بهتر و کم هزینه تر می‌باشد، چرا که در صورت معرفی و جایگزینی چنین گونه‌هایی که نیاز آبی پایینی داشته و زیبایی بصری قابل قبولی نیز داشته باشند، مطمئناً با منابع آبی موجود می‌توان سطح فضای سبز بیشتری را آبیاری نمود که هدف از انجام این طرح یافتن گونه‌های بومی و مقاوم به تنش رطوبتی است.

### مواد و روش‌ها

سه گونه چمن بومی *Agropyron desertorum* *Agropyron elongatum* و *Agropyron cristatum* همراه با چمن وارداتی Super sport (لولیوم پرنه رقم پانتر ۳۰،۱ درصد، لولیوم پرنه رقم پاراگون ۴۰،۲ درصد، فستوکا رقم روبرا بارل ۳، ۵درصد، فستوکا روبرا رقم رورنت ۴، ۵درصد، پوآ پراتنسیس رقم فول مون ۵، ۲۰درصد) جهت بررسی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار (۴ گلدان) در گلخانه مورد مطالعه قرار گرفتند. برای این منظور گیاهان به صورت نشایی در لوله‌های P.V.C با قطر ۹ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر به عنوان گلدان و در مخلوط خاکی با ترکیب ۷۰ درصد خاک مزرعه، ۲۰ درصد پیت ماوس و ۱۰ درصد ماسه کشت شدند. پس از استقرار کامل گیاهان پس از ۴۵ روز تیمارهای رطوبتی با سه سطح ۸۵ درصد ظرفیت زراعی (سطح شاهد)، ۶۵ درصد ظرفیت زراعی و ۴۵ درصد ظرفیت زراعی بر روی گیاهان اعمال شد. نحوه آبیاری گلدان‌ها به گونه‌ای بود که پس از مشخص شدن میزان آب مورد نیاز برای رساندن گلدان‌ها به این میزان محاسبه و به صورت روزانه گلدان‌ها توزین و آبیاری صورت می‌گرفت (۳۶). برای این منظور هر گلدان با ۷۴۰۰ گرم خاک پر شد. با توجه به اینکه درصد رطوبت وزنی خاک مورد آزمایش در حالت ظرفیت زراعی ۱۸/۲ درصد بود، مقدار آب نگهداری شده برای هر یک از سطوح ظرفیت زراعی تعیین گردید. بنابراین بوسیله توزین روزانه تمامی گلدان‌ها در ساعت ۱۰ صبح، وضعیت رطوبتی آن‌ها مشخص گردید. بدین ترتیب نقصان رطوبتی خاک با اضافه نمودن آب به درصدهای ظرفیت زراعی مد نظر رسید (۲۷). سرزنی چمن‌ها هر ۲ هفته یکبار و از ارتفاع ۶ سانتی متری انجام شد. پس از اعمال تنش رطوبتی ۵ برگ جوان و کامل توسعه یافته برای اندازه‌گیری طول و عرض برگ انتخاب شدند، که این

پروفیل خاک گردید. در مطالعه‌ای توسط سلاح ورزی و همکاران (۳۶) نشان داده شد توده بومی فستوکا هر چند که در شرایط رطوبتی نرمال، کیفیتی پایین‌تر از گونه‌های اصلاح شده دارد، اما در مقابل تنش‌های خشکی به خوبی می‌تواند کیفیت خود را حفظ نماید. افت کمتر کیفیت ظاهری و شادابی چمن در گونه‌های بومی بنا به نظر بسیاری از محققان می‌تواند ناشی از ایجاد سیستم گسترده ریشه (۲۱) و حفظ بهتر آماس (۴۲)، محتوای نسبی آب برگ (۴۰) و پایداری بهتر غشاء سلول‌ها (۲۲) باشد. داکوستا و هوانگ (۱۱) با مطالعه بنت گراس‌ها، پی بردند که ژنوتیپ‌هایی که فعالیت‌های فیزیولوژیکی مطلوب‌تری را در هنگام تنش خشکی نشان می‌دهند از درجه کیفیت چمن بالاتری برخوردار هستند. وایت و همکاران (۴۳) با بررسی روابط آبی در زوی شیلاگراس دریافتند که بعضی ارقام با وجود اینکه مصرف آب بالاتری نسبت به رای گراس چندساله که مصرف آب در آنها پایین است دارند، کیفیت بصری بهتری را نشان نمی‌دهند.

نتایج حاصل از پژوهش سادات احمدی و همکاران (۲) نشان داد تنش خشکی موجب کاهش شاخص رنگ و افزایش نشت الکترولیتی و درصد خشکیدگی برگ شد که در مجموع علف گندمی مقاومت بیشتری نسبت به خشکی دارد. فاو و همکاران (۱۵) بررسی کردند که تنش خشکی می‌تواند باعث ناکارآمدی شدن غشاء سلولی در برگ‌ها شود و به دنبال آن افزایش نفوذپذیری غشاء برای الکترولیت‌ها را سبب گردد. گراس‌هایی که بتوانند تحت شرایط تنش خشکی پایداری غشاء خود را حفظ کنند از نظر محتوای کلروفیل و میزان فتوسنتز و محتوای نسبی آب و پروتئین نیز نتایج بهتری را نشان می‌دهند. گونه آگروپیرون بومی به دلیل توسعه و پایداری سیستم ریشه‌ای در زمان وقوع تنش (به منظور جذب بهتر آب)، بالا نگه داشتن میزان محتوای آب برگ (از طریق کاهش عرض برگ)، تجمع بیشتر پروتئین و جلوگیری از تخریب غشاء سلولی از بالاترین تحمل به تنش خشکی برخوردار بود (۸ و ۴۰). کارو و دانکن (۱۰) نیز در بررسی ارقام مقاوم تال فسکیو که بین ۱۲ اکتوپپ این چمن انجام شد، متوجه شدند که رقم Rebel II و رقم Arid نسبت به رقم Kentucky 31 مقاومت بیشتر و بهتر به شرایط کمبود آب وجود دارد که ناشی از سازگاری‌های متنوع فیزیولوژیکی مانند حفظ محتوای آب نسبی در حد بالا و پایداری غشاء سلولی و کاهش نشت الکترولیتی می‌باشد. فو و همکاران (۱۵) پی بردند که تنش خشکی باعث ناپایداری غشاء سلولی در برگ‌ها شده و به دنبال آن افزایش نفوذپذیری برای خروج یون‌ها صورت می‌گیرد که هر چه میزان خشکی بیشتر باشد به همان نسبت نیز نشت الکترولیت افزایش می‌یابد. وایت و همکاران (۴۳) افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و ذخیره سازی کربوهیدرات‌ها را در زوی شیلاگراس در تنش خشکی گزارش کردند.

از آنجا که نمی‌توان در کنار توسعه فضای سبز از مزایا و فواید پوشش سبز چمن چشم‌پوشی نمود برای تحقق این هدف، استفاده

1 - *Lolium prene* "Panther"

2 - *Lolium prene* "Paragon"

3 - *Festuca rubra* "Bareal"

4 - *Festuca rubra* "Reverent"

5 - *Poa pratensis* "Full moon"



## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد بررسی شامل اثرات خشکی، گونه و اثر متقابل خشکی و گونه در جدول ۱ آورده شده است. اثر گونه بر همه صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر تنش رطوبتی نیز بر همه صفات مورد بررسی به غیر از کلروفیل b در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل گونه و تنش رطوبتی بر همه صفات مورد بررسی به غیر از عرض برگ معنی‌دار بود (جدول ۱).

### طول برگ

اثر گونه بر طول برگ معنی‌دار بود بطوری که بیشترین طول شاخساره از گونه *A. elongatum* (۵۱/۸ سانتیمتر) حاصل شد. تنش رطوبتی باعث کاهش طول برگ شد بطوری که کمترین طول برگ از تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول ۲). بیشترین (۴۹/۹ سانتی متر) طول شاخساره تحت شرایط تنش رطوبتی از گونه *A. elongatum* و تنش ۶۵ درصد ظرفیت زراعی و کمترین (۱۳/۶ سانتی متر) طول شاخساره از چمن سوپر اسپورت و تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول ۳). رشد سلول مهم ترین فرآیندی است که تحت تاثیر تنش رطوبتی قرار می‌گیرد. اولین علامت کمبود آب، کاهش فشار تورژانس است که منجر به کاهش رشد و نمو گیاه و برگ از طریق کاهش تقسیم و طولی شدن سلول‌ها می‌گردد. لیمیر و چاپمن (۲۷) بیان داشتند که میزان طولی شدن برگ‌ها یکی از مهم ترین ویژگی‌های مورفولوژیکی گراس هاست که تحت تاثیر ژنتیک و شرایط محیطی است. از طرف دیگر تنش خشکی طول ناحیه رشد و همچنین توسعه سلولی را به شدت محدود می‌کند (۳) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت.

### عرض برگ

بیشترین (۰۵/۲ میلی متر) و کمترین (۷۴/۱ میلی متر) عرض برگ به ترتیب از گونه‌های *A. elongatum* و چمن سوپر اسپورت حاصل شد. میزان عرض برگ تحت شرایط تنش‌های خشکی کاهش یافت بطوری که کمترین عرض برگ (۷۴/۱ میلی متر) از تیمار ۴۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (جدول ۲). اثر متقابل گونه و تنش رطوبتی بر عرض برگ معنی‌دار نشد (جدول ۳). تحقیقات گزانجیان و همکاران (۱۶) نیز نشان می‌دهد اولین پاسخ مورفولوژیکی به خشکی لوله‌ای شدن و کاهش سطح برگ است. جانز و لازنبی (۲۴) نیز بیان کردن دلیل برتری تال فسکیو نسبت به رایگراس در برابر تنش خشکی پیچش برگ‌ها است. این پاسخ گیاه به تنش خشکی از طریق مکانیسم اجتناب، باعث کاهش هدررفت آب برگ‌ها شده و از افت بیشتر کیفیت گیاه در صورت تداوم تنش خشکی جلوگیری می‌کند.

اندازه‌گیری توسط خط کش و کولیس ورنیه انجام گردید. کیفیت چمن‌ها با روش بصری، مطابق برنامه جهانی ارزیابی گراس‌ها (روش NTEP) اندازه‌گیری شد، در این روش از اعداد ۱ تا ۹ جهت سنجش کیفیت استفاده که عدد ۱ نشان دهنده رنگ زرد یا قهوه‌ای و عدد ۹ نشان دهنده رنگ سبز تیره می‌باشد (۴۱).

میزان آب نسبی برگ RWC همزمان با چین برداری و از روش بارس و ویتزلی (۱۹۶۲) (۳۴) از فرمول زیر بدست آمد:

$$RWC = (Fw - Dw) / (Tw - Dw) * 100$$

Fw=وزن تر Dw=وزن خشک Tw=وزن آماس یافته  
نشست الکترولیت بر اساس روش بلوم و ابرکن (۸) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

هدایت الکتریکی اولیه (Ci) و هدایت الکتریکی

$$EL = (Ci / Cs) * 100 (Cs)$$

میزان غلظت کلروفیل با استفاده از روش هیل و همکاران (۱۹)

و با استفاده از روابط زیر اندازه‌گیری شد:

$$Chl a (\mu g/ml) = (12/5 \times 663) - (2/55 \times 645)$$

$$Chl b (\mu g/ml) = (18/29 \times 645) - (2/58 \times 663)$$

$$Chl (total) = Chl a + Chl b$$

Chl = کلروفیل

$$645 = \text{میزان جذب نور در طول موج } 645 \text{ نانومتر}$$

$$663 = \text{میزان جذب نور در طول موج } 663 \text{ نانومتر}$$

اندازه‌گیری میزان پرولین برگ‌ها از روش بیس و همکاران (۶) با اندکی تغییرات استفاده شد. به این ترتیب که نمونه تازه با استفاده از نیتروژن مایع خرد شده و با سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد هموزن می‌گردد. مخلوط حاصل در دمای اتاق نگهداری شده تا به رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای درآید. پس از گذراندن مخلوط حاصل از کاغذ صافی به آن اسید استیک و معرف اسیدی ناین هیدرین ۲ اضافه شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده می‌شود، به منظور توقف واکنش، لوله‌ها در مخلوط آب و یخ قرار داده شده و ۴ میلی لیتر تولوئن به هر کدام از آنها اضافه می‌گردد. به منظور جداسازی اسید آمینه پرولین، ورتکس انجام می‌شود. پس از آن فاز قرمز رنگ حاوی اسید آمینه پرولین که به صورت جداگانه‌ای در بالا قرار گرفته، جدا شده و جذب مایع رنگی حاوی پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری می‌شود. در نهایت غلظت واقعی پرولین هر نمونه با استفاده از نمونه‌های استاندارد تهیه شده از پرولین خالص با وزن مولکولی ۱۱۵/۵ محاسبه می‌شود (۳۸). تجزیه آماری اطلاعات به وسیله نرم افزار JMP8 انجام و نمودارها و اشکال توسط نرم افزار EXCEL 2010 رسم شد.

زانگ و همکاران (۴۴) گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی برگ‌ها جهت لوله‌ای شدن برگ منتقل می‌شود. در گیاهان متحمل، سنتز آبسزیک اسید در ریشه افزایش یافته و به

جدول ۱- تجزیه واریانس تنش رطوبتی بر صفات مورد بررسی گونه های چمن آگروپیرون و چمن سوپر اسپورت.  
Table 1- ANOVA of drought stress on studied traits of crested *Agropyron spp* and Super sport turfgrass

| منابع تغییر<br>Source of variance | درجه آزادی<br>Df | پروترین<br>Proline | محتوای نسبی آب برگ<br>RWC | نشست یونی<br>Electron leakage | کلروفیل کل<br>Total Chlorophyll | کلروفیل b<br>Chlorophyll b | کلروفیل a<br>Chlorophyll a | کیفیت کلی<br>Visual quality | عرض برگ<br>Leaf width | طول برگ<br>Leaf length | میانگین مربعات<br>MS |  |
|-----------------------------------|------------------|--------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------|--|
|                                   |                  |                    |                           |                               |                                 |                            |                            |                             |                       |                        |                      |  |
| گونه<br>Species                   | 3                | 7.28**             | 865.61**                  | 1014.76**                     | 24.87**                         | 3.05**                     | 12.86**                    | 1.07**                      | 0.16**                | 2.91**                 |                      |  |
| خشکی<br>Drought stress            | 2                | 9.62**             | 923.05**                  | 981.61**                      | 16.05**                         | 0.53 <sup>ns</sup>         | 11.59**                    | 3.69**                      | 0.27**                | 14.76**                |                      |  |
| خشکی<br>Drought ×<br>Species      | 6                | 0.20*              | 389.62**                  | 427.50**                      | 13.94**                         | 1.07*                      | 7/70**                     | 1.65**                      | 0.01 <sup>ns</sup>    | 1.55**                 |                      |  |
| خطا<br>Error                      | 24               | 0.06               | 5.28                      | 5.31                          | 0.86                            | 0.43                       | 0.48                       | 0.19                        | 0.01                  | 0.12                   |                      |  |

ns, \* و \*\* به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد  
ns, \* and \*\*: not significant and significant at 5 and 1% probability level, respectively

جدول ۲- اثر گونه و تنش رطوبتی بر صفات مورد مطالعه  
Table 2- The effect of specie and drought stress on studied traits

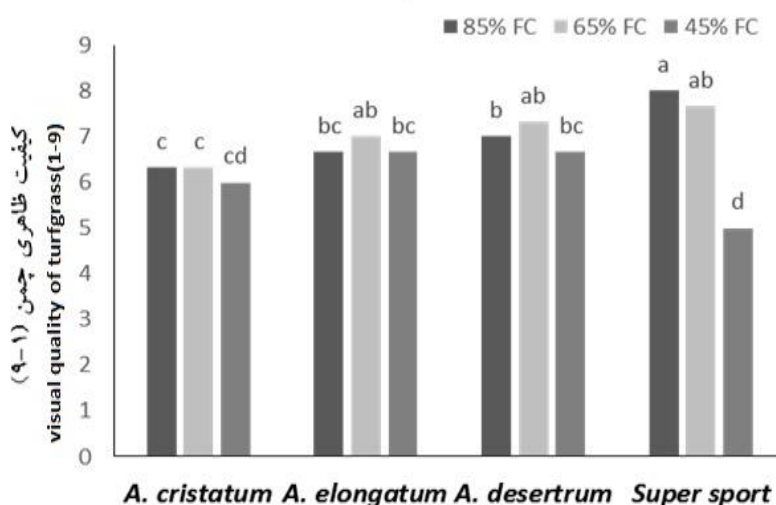
| گونه<br>Species                | پروترین<br>Proline | محتوای نسبی آب برگ<br>RWC | نشست یونی<br>leakage | کلروفیل کل<br>Total Chlorophyll | کلروفیل b<br>Chlorophyll b | کلروفیل a<br>Chlorophyll a | کیفیت ظاهری<br>چمن<br>Visual quality | عرض برگ<br>Leaf width (mm) | طول برگ<br>Leaf length (mm) |
|--------------------------------|--------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <i>A. cristatum</i>            | 4/b55              | 76/95b                    | 23/71b               | 21/58c                          | 6/62c                      | 14/96b                     | 6/22b                                | 1/91b                      | 7/76b                       |
| <i>A. elongatum</i>            | 5/30a              | 81/67a                    | 18/84c               | 24/29a                          | 7/96a                      | 16/32a                     | 6/77a                                | 2/05a                      | 8/51a                       |
| <i>A. desertorum</i>           | 4/71b              | 80/61a                    | 20/11c               | 22/72b                          | 7/37ab                     | 15/35b                     | 7/00a                                | 1/97ab                     | 8/22a                       |
| Super sport                    | 3/17c              | 60/55c                    | 41/72a               | 20/39d                          | 6/94bc                     | 13/44c                     | 6/88a                                | 1/74c                      | 7/20c                       |
| تنش رطوبتی<br>(Drought stress) |                    |                           |                      |                                 |                            |                            |                                      |                            |                             |
| 85% FC                         | 3/77c              | 82/09a                    | 18/21c               | 22/83a                          | 7/20a                      | 15/63a                     | 7/00a                                | 2/01a                      | 8/49a                       |
| 65% FC                         | 4/08b              | 77/59b                    | 24/11b               | 22/99a                          | 7/44a                      | 15/54a                     | 7/08a                                | 2/00a                      | 8/46a                       |
| 45% FC                         | 5/45a              | 65/16c                    | 35/97a               | 20/91b                          | 7/02a                      | 13/88b                     | 6/08b                                | 1/74b                      | 6/65b                       |

اعدادی که در هر ستون و برای هر عامل دارای حداقل یک حرف مشابه هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند  
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05) based on LSD test

و همکاران (۳۹) و سادات احمدی و همکاران (۲) بر روی گیاه علف گندمی و بیان و جیانگ (۳۲) بر روی گیاه پوآ پراتنسیس نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش کیفیت ظاهری چمن و افزایش درصد برگ‌های زرد شده می‌شود که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. همچنین سادات احمدی و همکاران (۲) گزارش کردند که تیمار تنش خشکی موجب کاهش شاخص رنگ، کاهش کیفیت ظاهری در گیاه لولیوم پرنه شد.

### کیفیت ظاهری چمن

نتایج این پژوهش نشان داد که گونه *A. desertorum* در بین گونه‌های مورد مطالعه دارای بیشترین کیفیت ظاهری چمن (۰۰/۷) بود. تنش رطوبتی کیفیت ظاهری چمن را کاهش داد بطوری که کمترین (۰۸/۶) مقدار آن در تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۲). تحت شرایط تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی، بهترین کیفیت ظاهری چمن (۶۶/۶) از گونه‌های *A. desertorum* و *elongatum* بدست آمد (شکل ۱). نتایج تاتاری



شکل ۱- تاثیر تنش رطوبتی بر کیفیت ظاهری چمن

Figure 1- The effect of drought stress on visual quality of turfgrass

سلاح ورزی و همکاران (۳۵) و تاتاری و همکاران (۳۹) نیز این کاهش کلروفیل در تنش خشکی دیده شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

### نشت یونی

اثر گونه بر نشت یونی معنی‌دار بود بطوریکه کمترین (۸۴/۱۸ درصد) و بیشترین (۷۲/۴۱ درصد) مقادیر آن به ترتیب از گونه‌های *A. elongatum* و چمن سوپر اسپورت بدست آمد (جدول ۲). تنش رطوبتی باعث افزایش نشت یونی شد بطوریکه بیشترین مقدار آن از شدیدترین تیمار تنش (۴۵ درصد ظرفیت زراعی) بدست آمد (جدول ۲). کمترین نشت یونی (۹۱/۱۷ درصد) از گونه *A. elongatum* و تنش رطوبتی ۶۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (شکل ۲). افزایش نشت الکترولیت با پیشرفت تنش توسط تاتاری و همکاران (۳۹) در گیاه *Agropyron desertorum* گزارش شده است. عامل اصلی در تحمل به هدر رفت آب است و افزایش نشت یونی نشان دهنده بروز

### کلروفیل a, b و کل

بیشترین مقادیر کلروفیل a و کل از *A. elongatum* بدست آمد و اثر گونه بر میزان کلروفیل b معنی‌دار نشد. تنش رطوبتی باعث کاهش میزان کلروفیل a, b و کل شد بطوریکه کمترین مقادیر آن از تیمار ۴۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (جدول ۲). تحت شرایط تنش رطوبتی، بیشترین مقادیر کلروفیل a, b و کل از گونه *A. elongatum* و تنش رطوبتی ۶۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (جدول ۳). بطور کلی، مقدار کلروفیل به عنوان یک معیار مناسب برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک گیاه است. ترکیبات دارای اکسیژن فعال در زمان خشکی در سلول تولید شده که سبب تخریب سیستم فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل می‌شوند (۳۸). علاوه بر این، در گیاهان تحت تنش خشکی، میزان آنزیم تخریب کننده کلروفیل افزایش (کلروفیلاز) پیدا می‌کند که منجر به تجزیه کلروفیل می‌شود که این تغییر در محتوای کلروفیل برگ به عنوان فاکتور مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی گیاه محسوب می‌شود. (۲۲). در تحقیق

همکاران (۲۸) و فرشادفر و جوادی نیا (۱۳) به ترتیب در چمن پوا و نخود نیز گزارش شده است که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت.

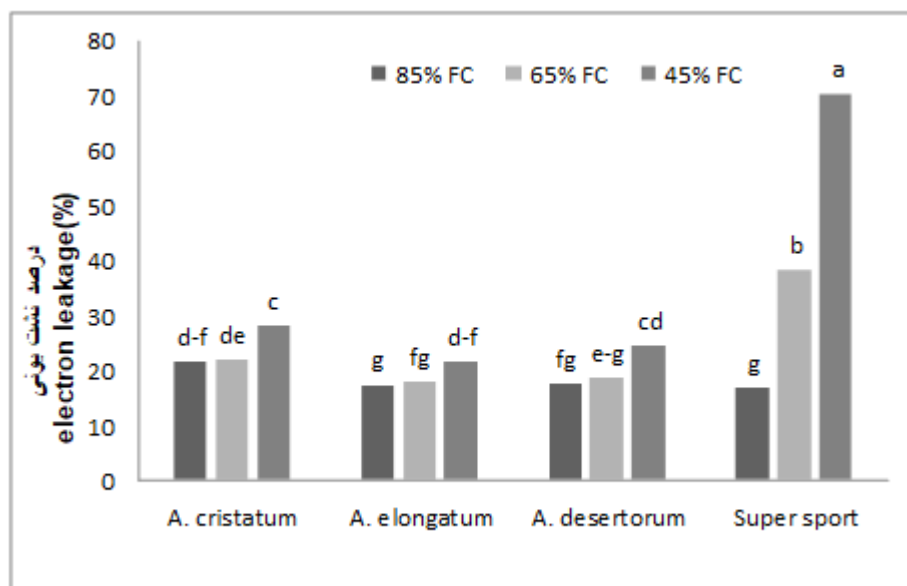
آسیب غشایی است (۹) البته گیاهان مقاوم به خشکی ثبات غشایی سلولی بیشتری نسبت به گیاهان حساس دارند (۲۳). افزایش در نشت یونی با افزایش تنش خشکی در تحقیقات گو و همکاران (۱۹)، لیو و

جدول ۳- اثر متقابل تنش رطوبتی × گونه های آگروپیرون و چمن سوپر اسپورت بر صفات مورد بررسی

Table 3- Interaction effect of drought stress × *Agropyron spp.* and Super sport turfgrass on studied traits

| گونه<br>Species | خشکی<br>Drought | کلروفیل کل<br>Total Chlorophyll | کلروفیل b<br>Chlorophyll b | کلروفیل a<br>Chlorophyll a | عرض برگ<br>Leaf width | طول برگ<br>Leaf length |
|-----------------|-----------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|------------------------|
| A. cristatum    | 85% FC          | 20/91g                          | 6/41de                     | 14/50c                     | 2/04a                 | 8/25c                  |
|                 | 65% FC          | 22/45c-g                        | 6/75c-e                    | 15/70ab                    | 1/99a                 | 8/84bc                 |
|                 | 45% FC          | 21/37fg                         | 6/70c-e                    | 14/67bc                    | 1/70a                 | 6/21f                  |
| A. elongatum    | 85% FC          | 23/69a-d                        | 7/40a-d                    | 16/28a                     | 2/06a                 | 8/44c                  |
|                 | 65% FC          | 24/83a                          | 8/42a                      | 16/40a                     | 2/12a                 | 9/49a                  |
|                 | 45% FC          | 24/34ab                         | 8/07ab                     | 16/27a                     | 1/97a                 | 7/60d                  |
| A. desertorum   | 85% FC          | 22/83b-f                        | 7/18b-d                    | 15/65a-c                   | 2/05a                 | 8/63c                  |
|                 | 65% FC          | 23/05b-e                        | 7/51a-d                    | 15/54a-c                   | 2/07a                 | 9/38ab                 |
|                 | 45% FC          | 22/30d-g                        | 7/43a-d                    | 14/87bc                    | 1/81a                 | 6/65ef                 |
| Super sport     | 85% FC          | 23/89a-c                        | 7/81a-c                    | 16/08a                     | 1/88a                 | 8/65c                  |
|                 | 65% FC          | 21/64e-g                        | 7/11b-d                    | 14/52c                     | 1/81a                 | 6/84e                  |
|                 | 45% FC          | 15/64h                          | 5/91e                      | 9/73d                      | 1/49a                 | 6/13f                  |

اعدادی که در هر ستون و برای هر عامل دارای حداقل یک حرف مشابه هستند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند  
Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)



شکل ۲- تاثیر تنش رطوبتی بر نشت یونی گونه های آگروپیرون و چمن سوپر اسپورت

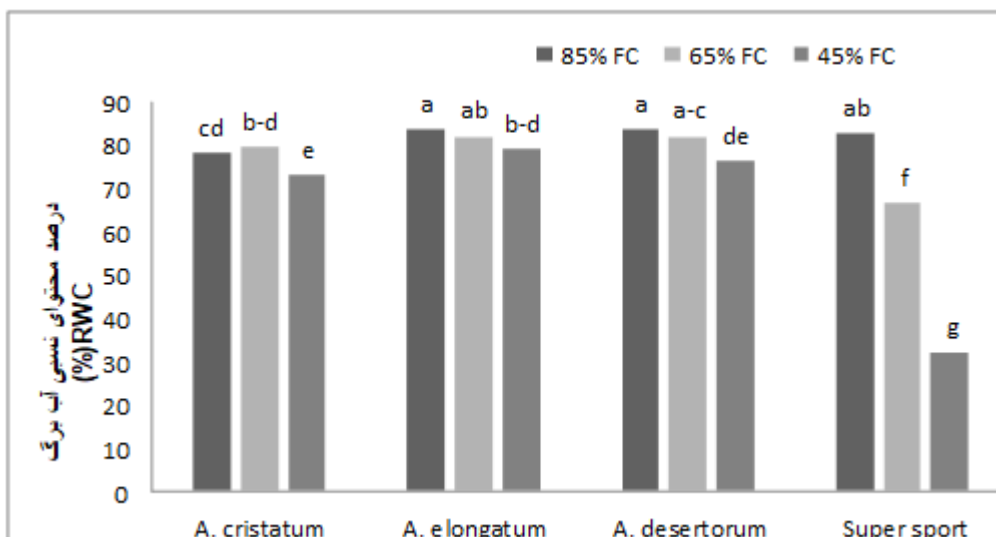
Figure 2- The effect of drought stress on electron leakage of *Agropyron spp.* and Super sport turfgrass

شد (جدول ۲). میزان RWC تحت شرایط تنش رطوبتی کاهش یافت بطوریکه کمترین مقدار آن از تنش رطوبتی شدید (۱۶/۶۵ درصد) بدست آمد (جدول ۲). بیشترین میزان RWC تحت شرایط تنش

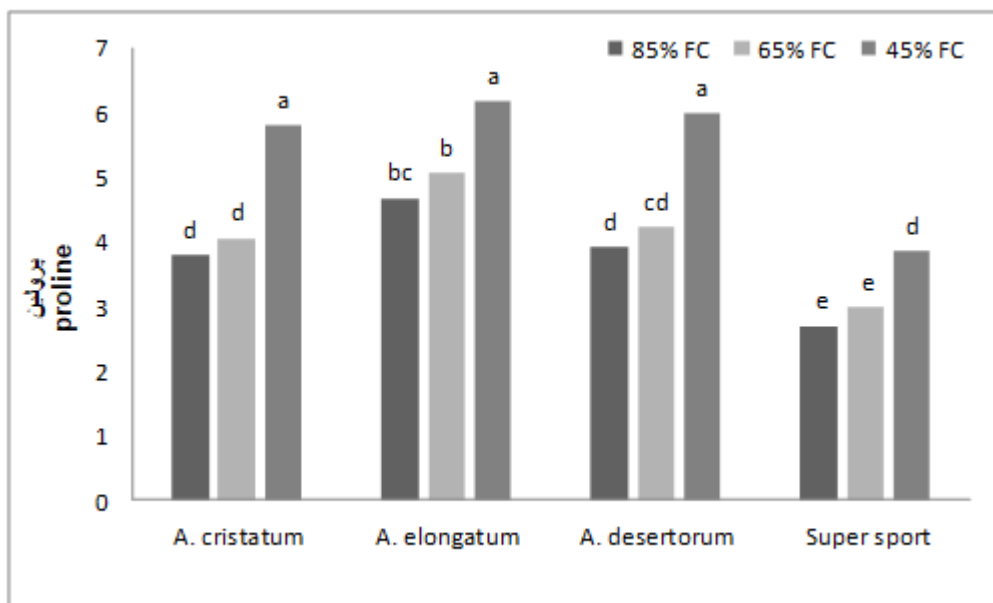
محتوای نسبی آب برگ (RWC) نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین مقدار RWC (۶۷/۸۱ درصد) در بین گونه های مورد بررسی از گونه *A. elongatum* حاصل

کاهش می‌یابد و میزان تبخیر بسیار کم می‌شود محتوای نسبی آب در هنگام تنش به خوبی حفظ شده و کارایی مصرف آب افزایش یافته و تداوم پایداری چمن در این شرایط زیاد می‌شود (۳۷). ژیانگ و هوانگ (۲۳) در مطالعه بر روی گراس‌ها به این نتیجه رسیدند که با کاهش RWC، کیفیت چمن نیز کاهش قابل توجهی را نشان می‌دهد.

رطوبتی (۱۲/۸۲ درصد) از گونه *A. elongatum* و تنش رطوبتی ۶۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (شکل ۳). در گونه‌های مختلف گراس‌ها تفاوت آشکاری در میزان هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز در پتانسیل‌های متفاوت اب دیده می‌شود (۴۴). با توجه به بالا بودن سطح تعرق در گراس‌ها (۲۱) در چمن‌هایی که هدایت روزنه‌ای



شکل ۳- تاثیر تنش رطوبتی بر محتوای نسبی آب برگ گونه‌های آگروپیرون و چمن سوپر اسپورت  
Figure 3- The effect of drought stress on RWC of *Agropyron spp.* and Super sport turfgrass



شکل ۴- تاثیر تنش رطوبتی بر محتوای پرولین برگ گونه‌های آگروپیرون و چمن سوپر اسپورت  
Figure 4- The effect of drought stress on leaf proline content of *Agropyron spp.* and Super sport turfgrass.

## پرولین

پرولین در شرایط تنش خشکی به علت فعال سازی آنزیم های بیوسنتزی پرولین، کاهش اکسیداسیون و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین ها می باشد (۴۳).

## نتیجه گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنش رطوبتی تاثیر چندانی بر مقادیر صفات رشدی و فیزیولوژیکی مورد مطالعه گونه های بومی نداشت ولی باعث کاهش کیفیت معنی دار چمن سوپر اسپورت وارداتی شد. علاوه بر این چمن های بومی کیفیت خوبی را از جنبه بصری در شرایط تنش رطوبتی به خود اختصاص دادند. از اینرو و با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش می توان به جای کشت ارقام وارداتی که مقاومت کم به خشکی و هزینه نگهداری بالایی دارند از چمن های بومی با مقاومت بیشتر و کم هزینه تر استفاده کرد. از میان سه گونه مورد بررسی گونه *A. elongatum* و *A. desertorum* از این حیث نسبت به گونه *A. cristatum* برتری داشتند و تحت تنش ۶۵ درصد ظرفیت زراعی از کیفیت ظاهری خوبی برخوردار بودند.

بیشترین و کمترین میزان پرولین در گونه *A. elongatum* و چمن سوپر اسپورت بدست آمد. میزان پرولین تحت شرایط تنش رطوبتی افزایش یافت بطوریکه بیشترین مقدار آن از تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد (جدول ۲). تحت شرایط تنش رطوبتی، بیشترین میزان پرولین از گونه *A. elongatum* و تنش رطوبتی ۴۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (شکل ۴). تجمع پرولین تحت شرایط تنش خشکی در گراس های چمنی مختلف گزارش شده است (۱۲، ۱۷ و ۱۸) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. نتایج پژوهش تاتاری و همکاران (۳۹) نشان داد که غلظت پرولین در گیاه *Agropyron desertorum* با پیشرفت تنش خشکی پس از قطع آبیاری بطور معنی داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش پیدا کرد. در زویشیا گراس تجمع پرولین، پلی امین، ترهالوز و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و افزایش ذخیره سازی کربوهیدرات ها از جمله ساز و کارهای تحمل به خشکی است (۳۲). از طرفی می توان گفت تجمع پرولین و افزایش مقاومت به خشکی رابطه مستقیم دارند و در گونه های مقاوم تجمع پرولین بیشتر اتفاق می افتد (۳۴). تجمع

## منابع

- 1- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., and Panneerselvam, R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11:100-105.
- 2- Ahmadi S.S., Basiri M., and Etemadi N. 2013. Comparison of Drought Resistance of Five Species, Cultivars and Populations of Lawn for Using in Landscape. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 13 (4): 391-404. (in Persian with English abstract)
- 3- Bacon M.A., Thompson D.S., and Davies W.J. 1997. Can cell wall peroxidase activity explain the leaf growth response of *Lolium temulentum* L. during drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 317:2075-2085.
- 4- Barrs H.D., and Weatherley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity techniques for the estimating water deficit in leaves. *Australian journal of biological sciences*, 15: 413-428.
- 5- Bastug R., and Buyuktas D. 2003. The effects of different irrigation levels applied in golf courses on some quality characteristics of turf grass. *Irrigation Science*. 22:87-93.
- 6- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207.
- 7- Bhatt R.M., and SrinivasaRao N. K. 2005. Influence of pod load response of okra to water stress. *Indian Journal Plant Physiology*, 10: 54-59.
- 8- Bian S., and Jiang Y. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulture*. 120: 264-270.
- 9- Blum A., and Ebercon A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*. 21: 43-47.
- 10- Carrow R.N., and Duncan R.R. 2003. Improving drought resistance and persistence in turf-type tall fescue. *Crop Science*. 43:978-984.
- 11- Dacosta M., and Huang B. 2005. Deficient irrigation effects on water use characteristics of Bentgrass species. *Crop science*. 46: 1779-1786.
- 12- Farkhondeh R., Nabizadeh E., and Jalilnezhad N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugar beet cultivars. *International Journal of Agriculture Science*. 2: 385-392.
- 13- Farshadfar A., and Javadinia J. 2011. Evaluation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes for drought tolerance.

- Seed and Plant Improvement Journal, 24: 517:537.
- 14- Fu J., and Huang B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environment and Experimental Botany*. 45: 105-114.
  - 15- Fu J., Fry J., and Huang B. 2004. Minimum water requirements of four turfgrasses in the transition zone. *Horticulture Science*. 39:1740-1744.
  - 16- Gazanchian A., Hajheidari M., Khosh Kholgh Sima N.A., and Salkadeh G.H. 2007. Proteome response of *Elymuselongatum* to sever water stress and recovery. *Journal of Experimental Botany*, 58:291-300.
  - 17- Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909-930.
  - 18- Gunes A., Pilbeam D.J., Inal A., and Coban S. 2008. Influence of silicon on sunflower cultivars under drought stress, I: Growth, antioxidant mechanisms, and lipid peroxidation. *Communication Soil Science and Plant Analysis*. 39: 1885-1903.
  - 19- Guo Z., Ou W., Lu S., and Zhong Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 828-836.
  - 20- Hill J., Verheggen F., Roelvink P., Fernssen H., Vankammen A., and Zabel K. 1985. Bleomycin resistance: A new dominant selectable marker for plant cell transformation. *Plant Molecular Biology*, 7:171-176.
  - 21- Huang B., Duncan R.R., and Carrow R.N. 1997. Drought-resistance mechanisms of seven warm-season turfgrasses under surface soil drying: II. Root aspects. *Crop Science*. 37:1863- 1869.
  - 22- Jiang Y., and Huang B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*. 41: 436-442.
  - 23- Jinrong L., Xiaorong X. Jianxiong D., Jixiong S., and Xiaomin B. 2008. Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulture*. 115: 190-195.
  - 24- Johns G.G., and Lazenby A. 1973. Defoliation, leaf area index, and the water use four temperate pasture species under irrigated and dryland conditions. *Australian Journal of Agricultural Research*, 24:783-795.
  - 25- Karcher D., Richardson M., and Landreth J. 2007. Drought Tolerance of tall fescue and bluegrass cultivars. *Arkansas Agriculture Experiment Standard Research Ser.* 557:17-20.
  - 26- Karcher D., Richardson M., and Landreth J. 2008. Drought Tolerance of Tall Fescue and Bluegrass Cultivars 2nd Year Data. *Arkansas Agriculture Experiment Standard Research Ser.* 568:25-28.
  - 27- Lemaire G., and Chapman D. 1996. Tissue flows in grazed plant communities. P. 3-36. In Hodgson, J. and Llius, A.W. (Ed.). *The ecology and management of grazing system*. CAB Int., UK.
  - 28- Liu J., Xie X., Du J., Sun J., and Bai X. 2008. Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Horticulture*. 115: 190-195.
  - 29- Magni S., Voltrani M., and Miele S. 2003. Soccer pitches performance as affected by construction method sand type and turf grass mixture. 1st International Conference on Turf Grass Management and Science for Sport Fields.
  - 30- Mostafaie A. 2011. Evolution quality and drought resistance of two Iranian turfgrasses. Horticulture thesis of post graduated (MSc), University of Tehran.
  - 31- Ommen O. E., Donnelly A., Vanhoutvin S., Vanoijen M., and Manderscheid R. 1999. Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO<sub>2</sub> concentration and other environmental stress within 'ESPACE-Wheat' project. *European Journal of Agronomy*. 10:197-203.
  - 32- Qian Y.L., and Fry J. d. 1996. Irrigation frequency affects zoysiagrass rooting and plant water status. *HortScience* 31:234-237.
  - 33- Sakr W. R. 2009. Respose of paspalum turfgrass grown in sandy soil to trinexapac-ethyl and irrigation water salinity. *Journal of horticulture Science and Ornamental Plants*, 1:15-26.
  - 34- Saneoka H., Moghaieb R.E.A., Premachandra G.S., and Fujita K. 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. *Environment Experimental Botany*. 52:131-138.
  - 35- Selahvarzi Y., Tehranifar A., Gazanchian A., and Arooei H. 2009. Drought resistance mechanisms of native and commercial turfgrasses under drought stress: I. Root responses. *Journal of horticulture science*, 22(2): 1-12. (in Persian with English abstract)
  - 36- Selahvarzi Y., Tehranifar A., Gazanchian A., and Arooei H. 2009. Drought resistance mechanisms of native and commercial turfgrasses under drought stress: II. Shoot responses. *Journal of Horticultural Sciences*, 23(1) 1-9. (in Persian with English abstract)
  - 37- Shearman R.C. 2006. Fifty years of splendor in the Grass. *Crop Science*. 46:2218-2229.
  - 38- Smirnof, N. 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125: 27-58.
  - 39- Tatari M., Fotouhi Ghazvini R., Etemadi N., Ahmadi A.M., and Musavi A. 2013. Study of some physiological responses in three species of turfgrass in drought stress conditions. *Journal of plant production*, 20(1): 63-86. (in Persian with English abstract)
  - 40- Thomas H; and James A.R. 1993. Freezing tolerance and solute changes in contrasting genotypes of *Lolium*

- perenne* L. Acclimated to cold and drought. Annual Botany. 72: 249-254.
- 41- Turgeon A.J. 1999. Turfgrass management. Prentice-Hall, Inc. Englewood cliffs, New Jersey.
- 42- Volaire F; Thomas H., and Lelievre F. 1998. Survival and Recover of perennial forage Grasses under prolong Mediterranean Drought. New Phytologist. 140:439-449.
- 43- White R.H., Bruneau A.U., and Cowett T.J. 2001. Drought resistance of diverse tall fescue cultivars. Installation Turfgrass Society and Research Journal. 7:607-613.
- 44- Zhang Y.B., Liu A.R., and Zhang X.P. 2009. Comparison of adaptability of thirteen cultivars of cold-season turfgrass in spring and summer in Bengbu. Pratacultural Science, 4:350- 355.





## Evolution of Morphological and Physiological Response of *Agropyron* spp. to Drought Stress

M. Yaghoobi<sup>1</sup> - M. Parsa<sup>2\*</sup> - A. Gazanchian<sup>3</sup> - H.R. khazaei<sup>4</sup>

Received: 31-05-2016

Accepted: 08-01-2017

**Introduction:** Lack of water resources is one of the most problems of increasing urban green spaces. Over the last three decades, turfgrass and lawn researches have put significant effort into developing and evaluating turf species that have good drought resistance. As water conservation becomes an important issue, considerable interest is increasing in identifying grasses that require less water. Plants with good drought resistance are those that are able to survive stress by means of drought avoidance, drought tolerance at leaf water potentials, or both. The efficient use of water is made possible by understanding the effects of irrigation water on crop development and yield. Drought affects the visual quality, growth rate and evapotranspiration. Researchers reported that turfgrass subjected to drought conditions for short periods could sustain a fairly good appearance by irrigation about half of its consumptive use whenever soil moisture level falls to near permanent wilting point. Drought stress caused decrease in RWC and visual quality of many grass cultivars. In drought conditions resistance grass showed increase in proline content on their leaves. Therefore the use of native grasses with high-strength instead of grass imported with low-resistance is one way to increase green space and reduce costs. The purpose of this study was compared native grasses with commercial grass cultivars.

**Materials and Methods:** This study was to evaluate the yield and resistance of native grasses to drought stress in 2014. This experiment was conducted in Khorasan Agricultural Research Center. Native *Agropyron* grass species included *Agropyron elangatum*, *A. desertrum*, *A. cristatum* and commercial cultivar super sport and third level of stress, including severe stress (45% FC), moderate stress (65% FC) and control (85% field capacity) were experimental treatments. Plants were cultured in PVC containers measuring 9 cm in diameter and 60 cm deep under greenhouse condition. Soil was mixture of 70% loam soil, 20% pit mass and 10% sand. Greenhouse air temperature was maintained between 22 and 28 centigrade degree. All plants were maintained under well watered conditions for 45 days before drought stress. This experiment was designed in factorial experiment based on completely random with four replicates. After the stress treatment parameters such as length and width of leaves, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content, visual quality, electrolyte leakage, RWC and proline content of leaves were measured. Length and width of leaves were measured with ruler. Proline content, RWC percent, chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll content of leaf, visual quality and leaf electrolyte leakage were measured with standard protocols. Analysis of the data by statistical software JMP 8 and graphs with Excel 2010 was drawn.

**Results and Discussion:** Result of the experiment showed that those native species have different response to soil moisture stress conditions. The highest and lowest lengths of leaf were observed under 45% field capacity in *A. elangatum* and super sport grass, respectively. The results showed that width of leaves of *A. elangatum* increase and then decrease in super sport. Under drought stress conditions *A. desertrum* has best visual quality with 6.07 score. Highest chlorophyll a and total chlorophyll were observed in *A. elangatum*. The lowest electrolyte leakage under drought stress was obtained from *A. elangatum* with 17.91 percent. RWC content in the native *A. elangatum* increased to 82.12 compared with super sport (control). *A. elangatum* under drought stress showed highest proline content and commercial cultivar (super sport) indicated lowest proline content at 45% field capacity irrigation. Selahvarzi and et al. (2009) found that visual quality of tall fescue decrease in drought stress. In drought stress, RWC percent decrease in grass species. Proline content was increased upon drought stress in *Lolium perenne* cool season grass. Many studies on native cultivar indicated that native turfgrass cultivar have more resistance to drought stress compared with exotic turfgrass cultivars.

**Conclusions:** According to the results, we said native grass species under drought stress conditions have better quality compared with imported grass cultivar such as Super sport. Visual quality in native grass was suitable for use in urban landscape, that visual quality show little change in drought stress and leaves were fresh in this conditions. The best visual quality of two native species *A. elangatum* and *A. desertrum* was observed

1, 2 and 4- Ph.D student, Associate Professor and Professor of College of Agriculture, Ferdosi University of Mashhad (\*- Corresponding Author Email: [parsa@um.ac.ir](mailto:parsa@um.ac.ir))

3- Associate Professor, Forests and Rangelands Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research And Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

under 65% field capacity. Native grass cultivars were more resistance than imported grass cultivars. This study showed that native grass such as *A. elongatum* and *A. desertrum* has low cost to use and these turfgrass need to lower water irrigation than commercial grass Super sport. Then two species can be introduced as low-input cultivars.

**Keywords:** Drought stress, Electron leakage, Native grass, Imported grass, Proline

## بررسی امکان انتقال cDNA ژن منگنزپراکسیداز (*mnp*) از قارچ صدفی به قارچ دکمه‌ای سفید با کمک آگروباکتریوم

مژگان پروندی<sup>۱</sup> - محمد فارسی<sup>۲\*</sup> - محسن اشرفی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۰۳

### چکیده

قارچ دکمه‌ای سفید یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی در دنیا به شمار می‌رود که در برداشت سوم محصول قابل قبولی تولید نمی‌کند. دلیل این امر کاهش مواد غذایی و ناتوانی این قارچ در استفاده بهینه از کمپوست ذکر شده است. تغییر بیان یا نوع آنزیم‌های موثر در تجزیه ترکیبات لیگنینی نظیر منگنزپراکسیداز راه‌حل‌های احتمالی حل این مشکل می‌باشند، که به نظر می‌رسد بتوان با بهره‌گیری از روش انتقال ژن از طریق آگروباکتریوم به این هدف دست یافت. در این پژوهش از قارچ خوراکی صدفی وارپته فلوریدا به‌عنوان منبع ژن منگنزپراکسیداز و بافت‌های تیغه و کلاهک قارچ دکمه‌ای سفید نژاد ۷۲۷ به‌عنوان گیرنده ژن استفاده شدند. باکتری آگروباکتریوم سویه‌ی LBA4404 دارای پلاسمید p13H88-FM نیز به‌عنوان ناقل به کار رفت. محیط کشت گزینشگر حاوی ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین برای انتخاب ریزنمونه‌های تراریخت مورد استفاده قرار گرفت. ریزنمونه‌های تیغه که نرخ تراریزش آن‌ها پنج درصد بود، بهتر از ریزنمونه‌های کلاهک که نرخ تراریزش آن‌ها صفر درصد بود، به روش تراریزش مورد استفاده پاسخ دادند. علاوه بر توانایی رشد بر روی محیط کشت انتخابی، واکنش زنجیره‌ای پلیمراس با آغازگرهای اختصاصی ژن‌های *mnp* و *hph* به‌عنوان یکی از روش‌های تأیید تراریختگی، سبب تکثیر قطعات به ترتیب ۱۰۴۹ و ۱۰۸۶ نوکلئوتیدی شد و تراریختگی کلنی‌های قارچی را تأیید کرد.

**واژه‌های کلیدی:** آگروباکتریوم، انتقال ژن، تجزیه لیگنین، قارچ دکمه‌ای سفید، کمپوست

### مقدمه

برای مشخص کردن کارکرد ژن‌ها و پایه آنالیزهای بیولوژیکی می‌باشد که می‌تواند به‌طور مستقیم باعث بهبود نژادها و پیش‌دستی کردن بر اصلاح مرسوم، از طریق اضافه کردن ژن‌های جدید و یا تغییر بیان ژن‌های موجود شود (۱۵).

در سال‌های اخیر، روش‌های مختلف انتقال ژن به موجودات مختلف گسترش یافته است که انتقال ژن از طریق آگروباکتریوم که یک باکتری خاکزی و گرم منفی است، به دلیل برتری الگوی الحاق ژن، سادگی و کم‌هزینه بودن آن، به‌طور متداول‌تری برای انتقال ژن به گیاهان و سایر موجودات از جمله قارچ‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۰). استفاده از آگروباکتریوم در انتقال ژن به گونه‌های قارچی، ابتدا در مخمر نان *Saccharomyces cerevisiae* و متعاقب آن در بسیاری از قارچ‌های رشته‌ای، از جمله قارچ دکمه‌ای سفید گزارش گردید. اولین گزارش تراریختی در قارچ دکمه‌ای سفید به وسیله آگروباکتریوم توسط دوگروت با استفاده از بازیدیوسپوره‌های در حال جوانه‌زنی صورت گرفت هرچند نرخ تراریختی در این تجربه چندان بالا نبود (۲۰). بررسی‌های صورت گرفته نشان دادند عوامل متعددی در میزان کارایی تراریختگی مبتنی بر آگروباکتریوم نقش دارند. ریزنمونه و مرحله

قارچ دکمه‌ای سفید (*Agaricus bisporus*) یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی به شمار می‌رود که باوجود ارزش اقتصادی و اهمیت بیوتکنولوژیکی فراوان، تکنیک‌های اصلاحی برای به‌کارگیری این پتانسیل‌ها کارساز نبوده‌اند. بزرگ‌ترین و جدی‌ترین مشکل در برنامه‌های اصلاحی قارچ دکمه‌ای سفید چرخه زندگی هموتالیک ثانویه آن است (۱۱)؛ بنابراین اصلاح نژاد در این موجود به دلیل تنوع ژنتیکی بسیار پایین در بین لاین‌های تجاری راندمان‌چندان‌ی ندارد (۱۳). در این گونه موارد، یکی از راه‌های جایگزین روش‌های اصلاحی سنتی، تراریزش ژنتیکی می‌باشد. تراریزش ژنتیکی تکنولوژی قدرتمندی است که از طریق آن ژن‌ها می‌توانند در داخل یا بین جنس‌های مختلف انتقال داده شوند. همچنین تراریزش یک پیش‌نیاز

۱ و ۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(Email: Mohfarsi@yahoo.com)

\*- نویسنده مسئول:

استفاده از اکسیداسیون  $Mn^{+2}$  به  $Mn^{+3}$  و با کمک  $H_2O_2$  به عنوان اکسیدانت، اکسید می کند (۲۳). قارچ صدفی تجزیه کننده اولیه است و توانایی بیشتری در تجزیه ترکیبات سلولوزی دارد. با انتقال ژن منگنز پراکسیداز (*mnp*) از این قارچ به قارچ دکمه‌ای امکان افزایش پتانسیل تجزیه ترکیبات سلولوزی در قارچ دکمه‌ای وجود دارد. این پژوهش با هدف بررسی امکان انتقال ژن *mnp* از قارچ خوراکی صدفی (*P. ostreatus* var. *florida*) که بیشتر به عنوان یک قارچ تجزیه کننده پسماندهای لیگنوسلولوزی شناخته می شود، به قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

### نژادهای قارچی، پلاسمید و باکتری‌های مورد استفاده

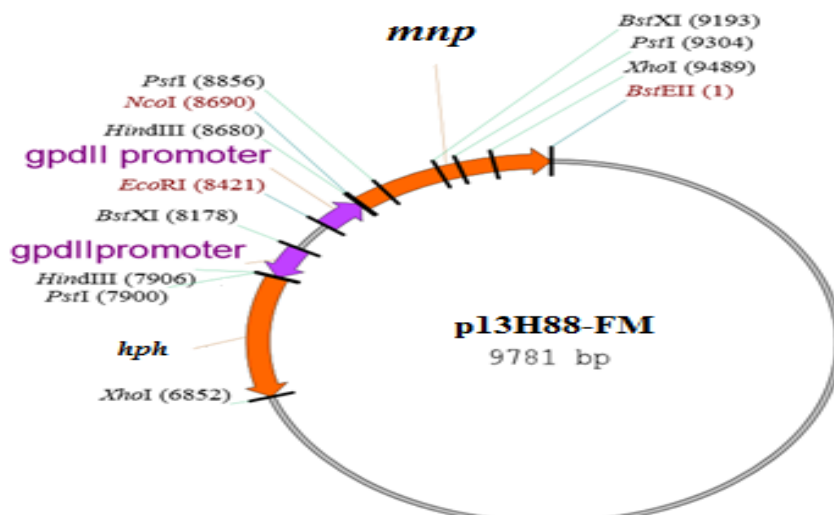
در این بررسی از سویه تجاری قارچ خوراکی صدفی (نژاد فلوریدا) به عنوان منبع ژن *mnp* و قارچ دکمه‌ای سفید (نژاد ۷۳۷) برای تولید قارچ تراریخت استفاده شد. کشت این نژادها از مرکز تولید اسپاون جهاد دانشگاهی واحد مشهد تهیه شدند. برای هم کشتی از باکتری آگروباکتریوم<sup>۱</sup> (نژاد LBA4404) استفاده شد. این باکتری دارای پلاسمید p13H88-FM که حاصل کارهای اشرفی و همکاران (۱) و پروندی و همکاران (۱۸) است، می باشد. ژن *mnp* موجود در این پلاسمید تحت کنترل پیشبر *gpdII* قارچ دکمه‌ای سفید می باشد. در این پلاسمید ژن هیگرومایسین B فسفوترانسفراز به عنوان انتخاب گر قارچ‌های تراریخت مورد استفاده قرار گرفته است که آن هم تحت کنترل پیشبر *gpdII* می باشد. نمای شماتیک پلاسمید مذکور در شکل ۱ نشان داده شده است.

طراحی آغازگرهای ژن‌های *hph* و *mnp* و واکنش PCR: آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن‌های *hph* و *mnp* با استفاده از نرم افزار Primer Premier V.5.0 طراحی شدند و به ترتیب توسط شرکت متابیون (آلمان) و ماکروژن (کره جنوبی) سنتز گردیدند. توالی‌های رشته رفت و برگشت این آغازگرها در ژن *hph* به ترتیب و *hph-F* 5'CACATCTCGAGTCGGCATCTA3' و *hph-R* 5'GCACTGCAGATGAAAAAGCC3' در ژن *mnp* 5'ATACCATGGATGACCTTTGCTTCGCTTTC3' *mnp-F* 5'TTAGGTAACCTTACGCAGGTGGGACACG3' و *mnp-R* می باشند. برنامه حرارتی مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر ژن‌های *hph* و *mnp* به صورت، چرخه نخست ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ چرخه بعدی، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۵۳ درجه سانتی‌گراد (برای ژن *hph*) و ۵۵ درجه سانتی‌گراد (برای ژن *mnp*) به مدت ۵۰ ثانیه و ۷۲ درجه

رشدی آن، نژاد آگروباکتریوم، نوع پلاسمید حامل، نوع ژن و پیشبر مورد استفاده از جمله این عوامل می باشند. به طور کلی بافت‌های تشکیل دهنده اندام باروری قارچ دکمه‌ای خصوصاً بافت مولد اسپور نسبت به سایر اندام‌های قارچی از جمله بازیدیوسپورها و میسلیوم رویشی نرخ تراریزش بالاتری را نشان می دهند (۸ و ۴). چن و همکاران (۸) با تغییر پیشبر 35S پلاسمید pCAMBIA1300 و جایگزین نمودن پیشبر *gpdII* قارچ دکمه‌ای سفید، پلاسمید دیگری به نام pBGgHg ساختند و بدین وسیله انتقال و بیان ژن هیگرومایسین فسفوترانسفراز را تحت یک پیشبر همولوگ بررسی نمودند. در این آزمایش نرخ تراریزش به دست آمده، هفت برابر بیشتر از تراریزش بازیدیوسپورها بود. علت نرخ پایین تراریزش در آزمایشات قبلی شاید به دلیل نرخ پایین جوانه زنی اسپورها و یا استفاده از پیشبرهای هترولوگ بوده است.

مطالعات نشان داده اند که اکثر نیازهای غذایی برای رشد میسلیوم و توسعه قارچ از لیگنین، سلولز، همی سلولز و پروتئین به دست می آید (۶). یکی از مشکلات موجود در صنعت پرورش قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید، کاهش و یا توقف تولید در برداشت سوم است که به نظر می رسد عامل اصلی این مشکل، اتمام مواد غذایی برای مصرف این قارچ و عدم توان استفاده بهینه از کمپوست تولید شده باشد. در نتیجه، استفاده از کمپوست نیازمند توانایی تولید مجموعه‌ای از آنزیم‌های تجزیه کننده ترکیبات لیگنینی در قارچ خوراکی دکمه‌ای می باشد (۱۶). آنزیم منگنز پراکسیداز (*mnp*)، یکی از عمومی ترین پراکسیدازهای تجزیه کننده لیگنین است که توسط اکثر قارچ‌های تجزیه کننده چوب و نیز بسیاری از قارچ‌های تجزیه کننده کمپوست از جمله قارچ دکمه‌ای سفید تولید می شود (۱۲). این آنزیم در اوایل دوره میوه دهی قارچ دکمه‌ای سفید و قارچ صدفی (*Pleurotus stratus*) از میسلیوم رویشی تولید می شود و حداکثر فعالیتش نیز در همین مرحله رشدی می باشد، اما با بلوغ میوه فعالیت این آنزیم در قارچ دکمه‌ای کاهش می یابد به صورتی که با بلوغ میوه میزان لیگنین کمپوست نیز به طور معنی داری کاهش می یابد (۲). مطالعات نشان می دهند که قارچ‌هایی که آنزیم MNP فعال تر و در نتیجه توانایی بیشتری در تجزیه ترکیبات لیگنینی دارند، از سرعت رشد بالاتری نیز برخوردارند (۲۳)؛ بنابراین از آنجاکه قارچ صدفی سرعت رشد بیشتری نسبت به قارچ دکمه‌ای دارد، آنزیم MNP قوی تری نیز نسبت به قارچ دکمه‌ای خواهد داشت. این آنزیم برون سلولی معمولاً دارای جرم مولکولی ۴۰-۵۰ KDa (حداکثر ۶۲-۳۸) است و pI آن بین ۳ و ۷ تغییر می کند و معمولاً حدود ۳-۴ است (۱۲). گزارش شده است که این آنزیم علاوه بر داشتن نقش پراکسیدازی، دارای فعالیت اکسیدازی نیز می باشد. این آنزیم نه تنها ترکیبات لیگنینی و فنولی را می شکند، بلکه مواد غیر فنولی که در حضور موادی خاص به هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای تبدیل می شوند را نیز با

سانتی گراد به مدت ۹۰ ثانیه و چرخه نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه می باشد.



شکل ۱- نمای شماتیک پلاسمید p13H88-FM  
Figure 1-p13H88-FM Schematic View

ابتدا با استفاده از کیت Rapid Fungal Genomic DNA Isolation Kit (Bio Basic Inc, FT 71415) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده DNA ژنومی کلنی های قارچ دکمه ای رشد یافته بر روی محیط کشت گزینشگر استخراج شدند. جهت بررسی کمی و کیفی DNA استخراجی، دستگاه ( NanoDrop ) و NanoDrop™ (2000, UV-Vis spectrophotometer) و همچنین ژل آگارز یک درصد با بافر TAE (IX) مورد استفاده قرار گرفتند.

در مرحله بعد، واکنش زنجیره ای پلیمرز با آغازگرهای اختصاصی ژن های *mnp* و *hph* بر روی DNA ژنومی استخراج شده از کلنی های قارچی انتخابی، برای تأیید تراختی کلنی ها مورد استفاده قرار گرفت. طول ژن *hph* حدود ۱۰۴۹ جفت باز و ژن *mnp* حدود ۱۰۸۶ جفت باز می باشد. محصولات واکنش PCR بر روی ژل آگارز یک درصد با بافر TAE (IX) با ولتاژ ۹۵ ولت به مدت یک ساعت تفکیک شدند.

نتایج: تأیید انتقال پلاسمید نو ترکیب p13H88-FM به باکتری آگروباکتریوم سویه LBA4404 با استفاده از تکنیک کلنی PCR: در آزمایش PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن *mnp* بر روی کلنی های باکتریایی قطعه ای منطبق بر اندازه مورد انتظار (۱۰۸۶ bp) تکثیر شد که تأیید کننده حضور ناقل مزبور در کلنی های ترانسفورم شده می باشد (شکل ۳).

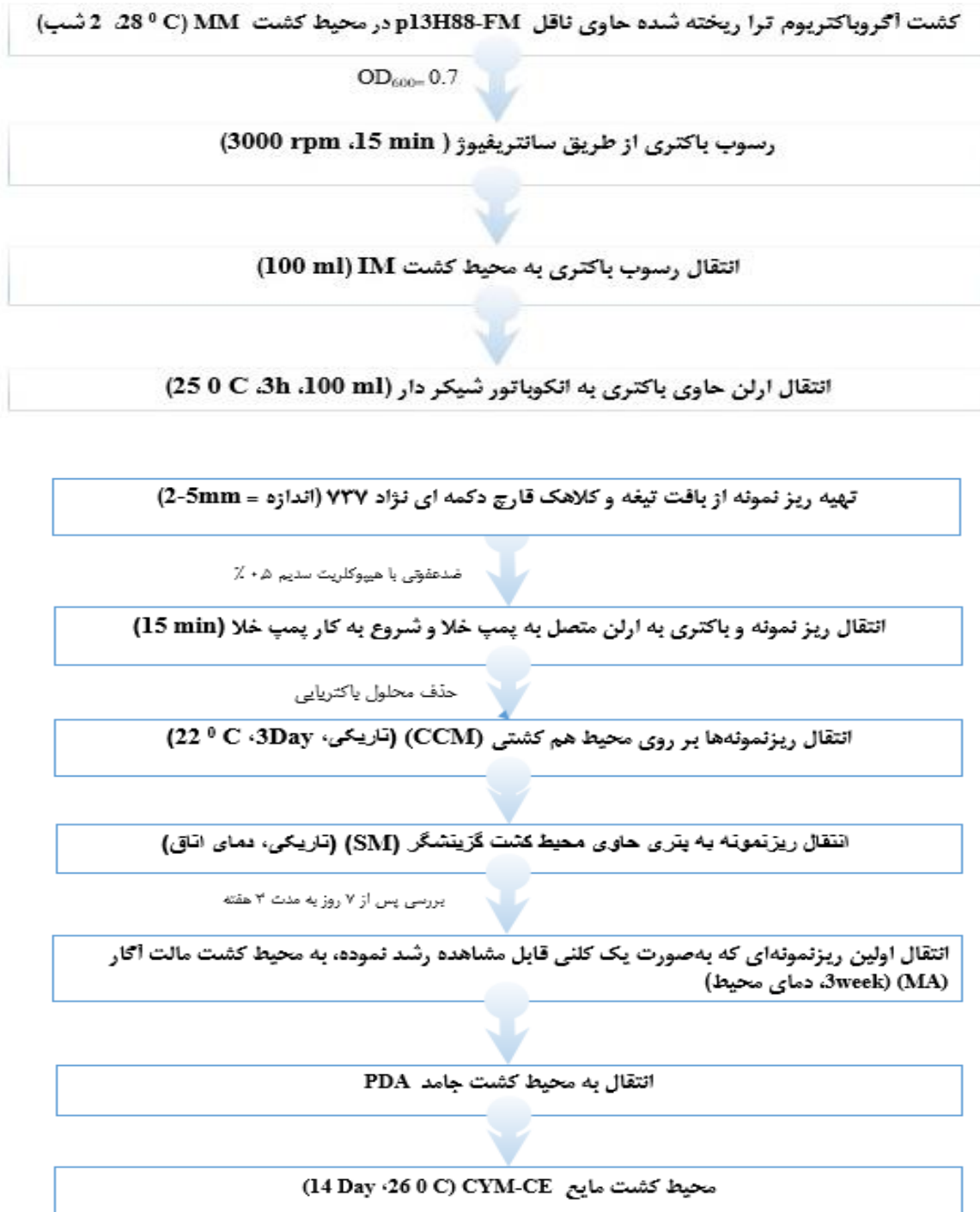
مخلوط اجزای واکنش PCR شامل یک میکرو لیتر آغازگر رفت و برگشت (۱۰ پیکومول)، ۱۵۰ نانوگرم DNA، ۰/۵ میکرو لیتر dNTPs (۱۰ میلی مولار)، ۲/۵ میکرو لیتر بافر (۱۰X)، ۰/۷۵ میکرو لیتر کلرید منیزیم (۲۵۰ میلی مولار)، ۰/۲ میکرو لیتر تک پلیمرز (5 U/μL) می باشد که حجم ۲۵ میکرو لیتر تهیه شد (۷).

انتقال پلاسمید نو ترکیب حاوی ژن *mnp* (p13H88-FM) به آگروباکتریوم سویه ی LBA4404 و تأیید به روش کلنی PCR: پس از ایجاد باکتری های مستعد، ترانسفورمسیون به روش Freeze-thaw Transformation (۲۱) انجام گرفت. جهت تأیید کلنی های باکتریایی تشکیل شده بر روی محیط کشت LB انتخابی دارای ۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر آنتی بیوتیک کانامایسین، از روش کلنی PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن *mnp* و برنامه دمایی و همچنین مخلوط اجزای واکنش گفته شده در بالا استفاده شد. جهت بررسی تکثیر ژن *mnp* از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد با بافر TAE (IX) استفاده گردید.

مراحل انتقال ژن *mnp* یک کلنی از باکتری آگروباکتریوم تراریخته شده با ناقل p13H88-FM به منظور آماده سازی برای انجام واکنش تراریزش قارچ دکمه ای سفید انتخاب و سایر مراحل آزمایش مطابق چارت ذیل انجام شد:

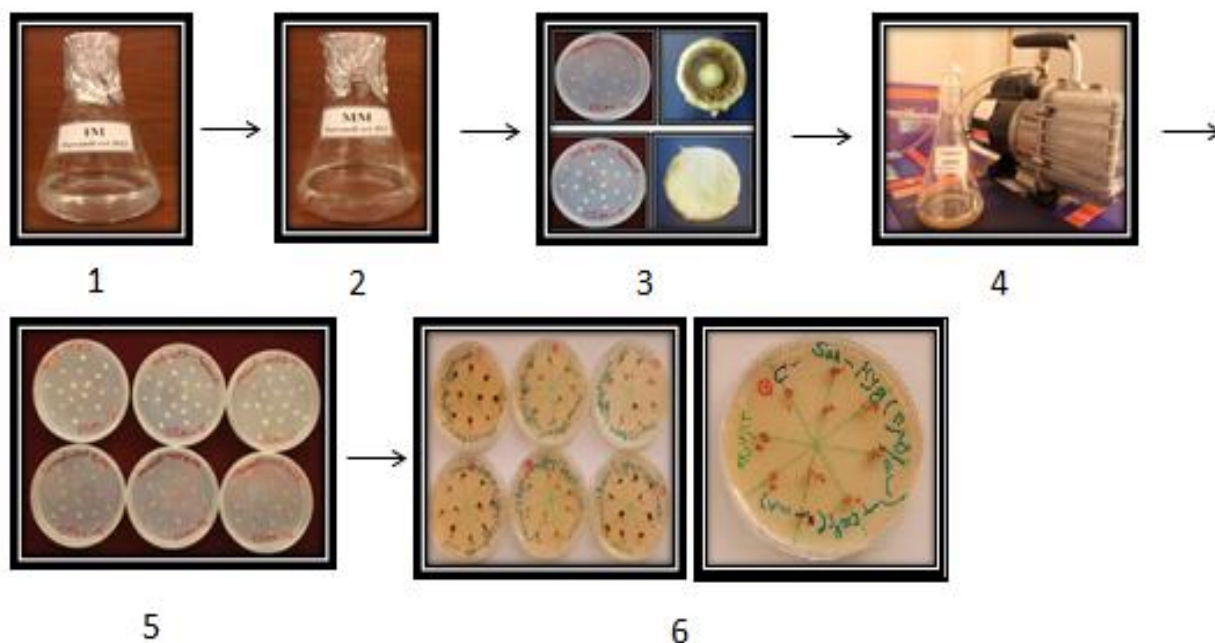
در این آزمایش جهت بررسی قدرت رشدی ریزنمونه های کلاهک و تیغه، از محیط کشت گزینشگر فاقد آنتی بیوتیک هیگرومایسین نیز استفاده شد.

تأیید تراختی کلنی های قارچی با استفاده از آزمون PCR: در



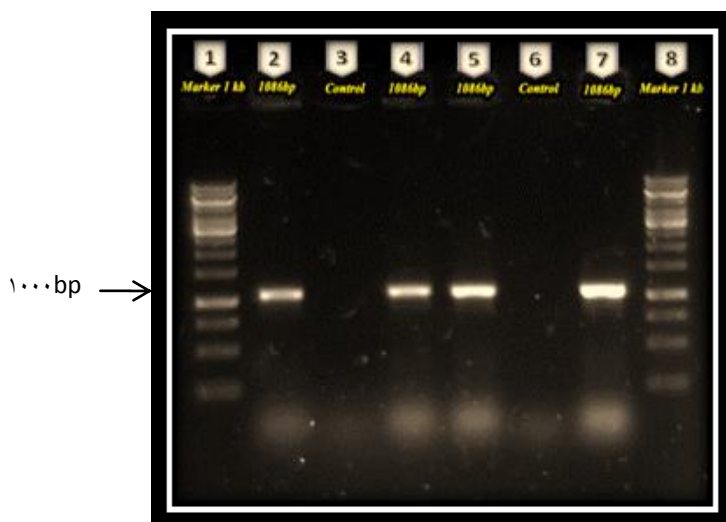
جدول ۱- ترکیبات محیط کشت

| ترکیبات محیط کشت<br>Components of culture medium  | علامت اختصاری<br>Abbreviation | محیط کشت<br>Culture medium |
|---|-------------------------------|----------------------------|
| ۵ میلی لیتر بافر K7، ۱۰ میلی لیتر محلول M-N، ۰/۵ محلول CaCl <sub>2</sub> ، ۵ میلی لیتر محلول گلوکز، ۵ میلی لیتر محلول FeSO <sub>4</sub> ، ۲/۵ میلی لیتر محلول عناصر، ۱/۲۵ میلی لیتر محلول NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ، ۲ میلی لیتر محلول کانلماپسین<br>5 ml of K7 buffer, 10 ml of M-N solution, 0.5 ml of CaCl <sub>2</sub> , 5 ml of glucose solution, 5 ml of FeSO <sub>4</sub> solution, 2.5 ml of elements solution, 1.25 ml of NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> solution, 2 ml of kanamycin solution  | MM                            | حداقل<br>Minimal           |
| ۰/۴ میلی لیتر بافر K4، ۱۰ میلی لیتر محلول M-N، ۰/۵ محلول CaCl <sub>2</sub> ، ۵ میلی لیتر محلول گلوکز، ۲/۵ میلی لیتر محلول عناصر، ۱/۲۵ میلی لیتر محلول NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> ، ۵ میلی لیتر محلول گلیسرول، ۲۰ میلی لیتر بافر MES، ۲ میلی لیتر محلول کانلماپسین، ۲ میلی لیتر محلول استوسیرینگون<br>0.4 ml of K4 buffer, 10 ml of M-N solution, 0.5 ml of CaCl <sub>2</sub> , 5 ml of glucose solution, 2.5 ml of elements solution, 1.25 ml of NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> solution, 2 ml of kanamycin solution, 2 ml of acetosyringone solution | IM                            | القائی<br>Induction        |
| محیط کشت القائی، ۲/۵ میلی لیتر محلول گلوکز، ۷/۵ گرم آگار<br>Induction medium, 2.5 ml of glucose solution, 7.5 g of agar   | CCM                           | هم کشتی<br>Co-cultivation  |
| ۱۰ گرم عصاره مالت، ۱/۰۵ گرم MOPS، ۷/۵ گرم آگار<br>10 g of malt extract, 1.05 g of MOPS, 7.5 g of agar   | SM                            | گزینشگر<br>Selective       |
| ۲ گرم عصاره مالت، ۱/۲ گرم MOPS، ۱۵ گرم آگار<br>2 g of malt extract, 1.2 g of MOPS, 15 g of agar   | MA                            | مالت آگار<br>Malt agar     |
| ۲۰۰ میلی لیتر عصاره سیب زمینی، ۱۰ گرم دکستروز، ۱/۵ گرم عصاره مالت<br>200 ml of potato extract, 10 g of dexteros, 1.5 g of malt extract  | PDA                           | جامد<br>Solid              |
| ۲۰۰ میلی لیتر عصاره کمپوست، ۲۰ میلی لیتر محلول CYM<br>200 ml of compost extract, 20 ml of CYM solution  | CYM-CE                        | مایع<br>Liquid             |



شکل ۲- شمای کلی مراحل انتقال ژن در قارچ *A. bisporus*. ۱. محیط کشت حداقل (MM)، ۲. محیط کشت القائی (IM)، ۳. قارچ مورد استفاده، ۴. پمپ خلأ، ۵. محیط کشت هم کشتی (CCM)، ۶. محیط کشت انتخابی (SM) همراه با کنترل (نمونه‌های تراریخت نشده)

Figure 2- *A. bisporus* Gene Transformation Basic Schema. 1. Minimal Culture Medium (MM). 2. Induction Culture Medium (IM). 3. Used Mushroom. 4. Vacuum Pump. 5. Co-Cultivation Medium 6. Selection Medium (SM) With Control (Nontransgenic Samples)

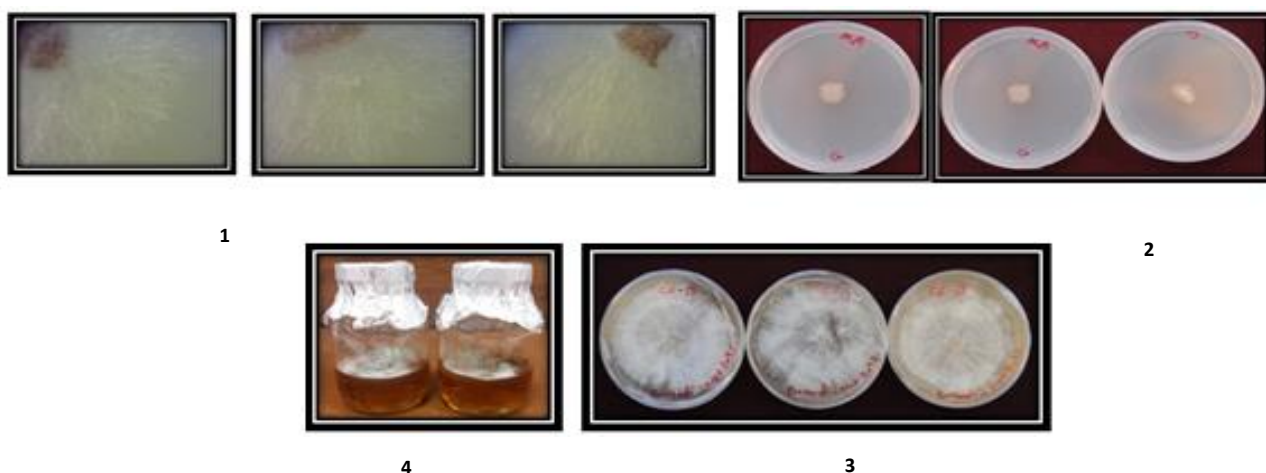


شکل ۳- الکتروفورز محصول واکنش کلنی PCR بر روی کلنی‌های باکتریایی انتخابی بر روی ژل آگارز یک درصد (بافر TAE، ولتاژ ۹۵، ۴۵ دقیقه) چاهک شماره ۱ و ۸: نشانگر اندازه 1Kb (Fermentas. SM1163)، چاهک شماره ۳ و ۶: کنترل منفی برای واکنش Colony PCR (الگو=آب)، چاهک شماره ۴: کنترل مثبت برای واکنش Colony PCR (الگو= پلاسمید حاوی ژن *mnp*)، چاهک شماره ۲ و ۴ و ۵ و ۷: محصول PCR ژن *mnp* (۱۰۸۶ bp)

Figure 3- PCR Colony Reaction Product On Selection Bacteria Colony On 1% Agarose Gel. (TAE Buffer 95 V, 45 min)  
6 : Negative Control For Colony PCR Reaction. No 1&8: 1KB Size Marker (Fermentas SM1163). Hell No 3, (Template=Water). Hell NO 4: Positive Control for Colony PCR (Template= Plasmid With *mnp* Gel). Hell No 2 & 4 & 5 & 7: Hell (1086 bp). *mnp* Gene PCR Product

میکروسکوپی رشد این ریزنمونه‌ها که با میکروسکوپ دیجیتالی Digital Microscope Dino Lite AM-313T عکس‌برداری گردید، مشاهده می‌شود. تعدادی از ریزنمونه‌های کلاهک که در محیط کشت فاقد هیگرومایسین کشت شده بودند، رشد نکردند، اما تمام ریزنمونه‌های تیغه زنده مانده و کلنی میسلیمی تشکیل دادند.

رشد ریزنمونه بافت تیغه در محیط کشت گزینشگر حاوی آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین B: از ۶۰ ریزنمونه تیغه تیمار شده با غلظت  $OD_{600} = 0.7$  باکتری، سه ریزنمونه بر روی محیط کشت گزینشگر حاوی آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین B (۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تشکیل کلنی میسلیمی دادند. در شکل ۴- ۱ تصویر



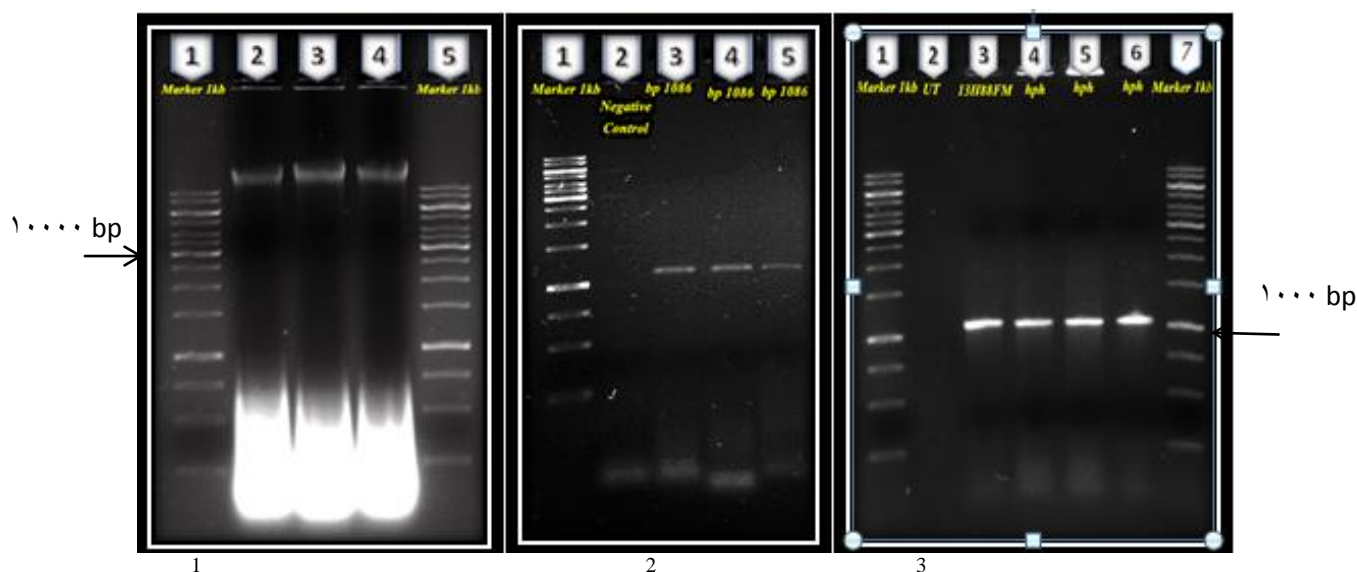
شکل ۴- رشد میسلیم‌های تراریخت روی (۱) محیط کشت گزینشگر، (۲) محیط کشت مالت آگار، (۳) محیط کشت PDA و (۴) محیط کشت مایع CYM-CE

Figure 4- Transgenic Mycelium Growth (1) Selector Culture Medium (2) Malt Agar Medium Culture (3) PDA Culture Medium (4) Liquid Culture Medium CYM-CE



CYM-CE مایع منتقل شدند و همان طور که انتظار می‌رفت پس از گذشت ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد میسلیموم‌ها در سطح محیط کشت مشاهده گردید (شکل ۴-۳ و ۴-۴)

رشد ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت مالت آگار و محیط کشت PDA و CYM-CE مایع: ریزنمونه‌های رشد یافته بر روی محیط کشت گزینشگر پس از انتقال به محیط کشت مالت آگار مطابق شکل ۲-۴ رشد کردند. کلنی‌های میسلیمومی حاصل از رشد ریزنمونه‌های تراریخته در محیط مالت آگار ابتدا به محیط کشت PDA و سپس



شکل ۵- (1) نمونه DNA استخراج شده، (2) تکثیر ژن *mnp* (3) تکثیر ژن *hph*: الکتروفورز DNA ژنومی قارچ دکمه‌ای سفید بر روی آگارز یک درصد (بافر TAE، ولتاژ ۹۵، ۵۵ دقیقه) چاهک ۱ و ۵: سایز مارکر 1kb (Fermentas, SM1163)، چاهک شماره ۲ و ۳ و ۴: DNAهای استخراج شده. 2: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *hph* در ریزنمونه‌های تراریخت قارچ دکمه‌ای سفید بر روی ژل آگارز یک درصد (بافر TAE، ولتاژ ۹۵، ۵۰ دقیقه) چاهک شماره ۱ و ۵: سایز مارکر 1kb (Fermentas, SM1163)، چاهک شماره ۲: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز قارچ دکمه‌ای سفید تراریخت نشده (NonT) به عنوان کنترل منفی، چاهک شماره ۳: کنترل مثبت (پلاسمید p13H88-FM حاوی ژن *mnp*)، چاهک شماره ۴ و ۵: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *hph* 3: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mnp* در ریزنمونه‌های تراریخت قارچ دکمه‌ای سفید بر روی ژل آگارز یک درصد (بافر TAE، ولتاژ ۹۵، ۵۰ دقیقه). چاهک شماره ۱ و ۷: سایز مارکر 1kb (Fermentas, SM1163)، چاهک شماره ۲: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز قارچ دکمه‌ای سفید تراریخت نشده (NonT) به عنوان کنترل منفی، چاهک شماره ۳ و ۴ و ۵: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *mnp* ریزنمونه‌های تراریخت

Figure 5- (1) Extracted DNA Sample, (2) *mnp* Gene Reproduction (3) *hph* Gene Reproduction, 1: *A.bisporus* Genome DNA Electrophoresis On 1% Agarose (TAE buffer, 95 V, 55 min) Hell No 1&5: 1kb Size Marker (Fermentas SM1163), Hell 2,3,4: Extracted DNA's . 2: *hph* Gene Polymerase Chain Reaction Product In transgenic in transgenic *A.bisporus* Explants on 1% Agar Gel (TAE Buffer, 95 V, 50 min) Hell No 1,5: 1kb Size Marker (Fermentas, SM1163), Hell 2: Non transgenic Polymerase Chain Reaction Product as negative control, Hell 3: positive control (p13H88-FM contain *mnp* gene), Hell 4 & 5: *hph* Gene Polymerase Chain Reaction Product, 3: *mnp* Gene Polymerase Chain Reaction Product In transgenic *A.bisporus* Explants on 1% Agar Gel (TAE Buffer, 95 V, 50 min). Hell 1&7: 1kb Size Marker (Fermentas, SM1163), Hell 2: Non transgenic Polymerase Chain Reaction Product as negative control, Hell 3&4&8: *mnp* Polymerase Chain Reaction Product in transgenic *A.bisporus* Explants

استخراج DNA ژنومی از میسلیموم کلنی‌های رشد یافته بر محیط کشت گزینشگر و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن‌های *hph* و *mnp*: نتایج الکتروفورز DNA ژنومی قارچ دکمه‌ای سفید درستی DNA استخراج شده را تأیید کرد. نسبت  $A_{260}/A_{280}$  در نمونه‌های استخراج شده به ترتیب از چاهک شماره ۲ و ۳ و ۴ عبارت بودند از:

استخراج DNA ژنومی از میسلیموم کلنی‌های رشد یافته بر محیط کشت گزینشگر و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن‌های *hph* و *mnp*: نتایج الکتروفورز DNA ژنومی قارچ دکمه‌ای سفید درستی DNA استخراج شده را تأیید کرد. نسبت  $A_{260}/A_{280}$  در نمونه‌های استخراج شده به ترتیب از چاهک شماره ۲ و ۳ و ۴ عبارت بودند از:

و به کمک سویه AGL-1 آگروباکتريوم به تراریزش قارچ دکمه‌ای پرداختند، توانستند به نرخ تراریختگی ۸۰/۴ درصد دست یابند. نتایج حاصل از زنده‌مانی تیغه‌ها بر روی محیط فاقد هیگرومایسین این گمان که شاید عدم رشد ریزنمونه‌ها در غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیگرومایسین ناشی از عدم قدرت رشد تیغه‌ها باشد و نه اثر آنتی‌بیوتیک را رد کرد. عدم زنده‌مانی تعدادی از ریزنمونه‌های کلاهدک در محیط کشت فاقد هیگرومایسین احتمالاً ناشی از باقی ماندن مقداری از هیپوکلواریت سدیم است که به دلیل اسفنجی بودن بافت این ریزنمونه در زمان شستشو از آن خارج نشده است، اما در ریزنمونه‌های تیغه به دلیل سطح تماس بیشتر و داشتن سطح صاف ریزنمونه به خوبی از عامل ضدعفونی‌کننده پاک شده‌اند و در نتیجه تمامی ریزنمونه‌های تیغه زنده مانده و تشکیل کلنی میسلیومی داده‌اند. مقایسه نتایج درصد تراریختی حاصل از آزمایشات چلوارفروش و همکاران (۷) و نتایج حاصله از آزمایش ما پیشنهاد می‌کند که پیشبر همولوگ *gpdII* به خوبی سبب بیان ژن *hph* شده و سبب ایجاد چنین اختلافی در درصد تراریزش شده است. آزمایشات قبلی نیز تأییدکننده این موضوع هستند که نوع پیشبر می‌تواند تأثیر بسزایی در درصد تراریختی داشته باشد (۸، ۴) از آنجا که اختلافات آزمایش صورت گرفته با آزمایشی که برنز و همکاران (۴) انجام داده‌اند سویه باکتری و پلاسمید مادری می‌باشد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد یکی از دلایل درصد پایین تراریختی، ناشی از سویه باکتری و همچنین نوع پلاسمید به کاررفته باشد که با نتایج حاصل از آزمایشات محقق مذکور و همچنین کارهای لیچ و همکاران (۱۵) هم‌خوانی دارد. همچنین نرخ تراریزش بافت تیغه بهتر از بافت کلاهدک است لذا استفاده از بافت تیغه جهت تراریزش پیشنهاد می‌گردد. میزان مطلوب آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین در آزمایش تراریزش ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد و غلظت‌های کمتر و بیشتر معمولاً پاسخ مناسبی ایجاد نمی‌کنند.

نکرد (شکل ۵-۲). قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید فاقد ژن *hph* می‌باشد لذا انتظار می‌رفت که واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی DNA ژنومی قارچ‌های غیر تراریخت هیچ‌گونه محصولی نداشته باشد اما سبب تکثیر قطعه تقریباً ۱۰۵۰ نوکلئوتیدی بر روی DNA ژنومی قارچ‌های انتخاب شده از روی محیط کشت گزینشگر شود (شکل ۵-۳).

بحث: رشد میسلیوم قارچ بر روی محیط کشت گزینشگر به دلیل رفع مسمومیت حاصل از آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین می‌باشد که به نوعی نشان دهنده بیان ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک هیگرومایسین یا همان هیگرومایسین فسفوترانسفراز می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ژن *mmp* نیز به خوبی بیان می‌شود، اما مطالعات بیشتری در خصوص میزان بیان این ژن و همچنین میزان فعالیت این آنزیم لازم است. مثبت بودن واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای هر دو ژن دلیل دیگری بر تراریخت بودن کلونی‌های رشد کرده بر روی محیط کشت گزینشگر می‌باشد. استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای اثبات تراریختگی قارچ دکمه‌ای خوراکی در تعدادی از مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است (۸، ۲۰ و ۳). از ۶۰ ریزنمونه بافت کلاهدک، هیچ‌گونه ریزنمونه تراریختی مشاهده نگردید درحالی که از ۶۰ ریزنمونه بافت تیغه ۳ ریزنمونه تراریخت (۵ درصد) دیده شد. چلوارفروش و همکاران (۷) نیز با استفاده از سویه LBA4404 آگروباکتريوم و پلاسمید pCAMBIA1304 که همان پلاسمید مادری مورد استفاده در آزمایش حال حاضر است با این تفاوت که ژن هیگرومایسین فسفوترانسفراز تحت کنترل پیشبر CaMV 35s بود، توانستند از بین ۲۰۲ ریزنمونه تیغه قارچ تحت آزمایش تراریختی به دو نمونه تراریخت دست پیدا کنند که نرخ تراریزشی برابر با ۰/۹۹ درصد می‌باشد. برنز و همکاران (۴) نیز با استفاده از پلاسمید pBGGHg حاصل از پلاسمید pCAMBIA1300 که از پیشبر *gpdII* برای کنترل ژن مقاومت به هیگرومایسین بهره‌مند بود و ریزنمونه‌های تیغه

## منابع

- 1- Ashrafi M., Farsi M., Mirshamsi A, and Parvandi M. 2015. Isolation and sequence analysis of *GpdII* Promoter of the white button mushroom (*Agaricus bisporus*) from strains holland 737 and IM008. International Journal of Horticultural the Science and Technology, 2(1):33-41.
- 2- Bonnen A. M., Anton L. H., and Orth A. B. 1994. Lignin-Degrading Enzymes of the Commercial Button Mushroom, *Agaricus bisporus*. Apply Environ Microbiology. 60(3): 960-5.
- 3- Burns C., Gregory K. E., Kirby M., Cheung M. K., Riquelme M., Elliott, T. J., Challen M. P., Bailey A., and Foster G. D. 2005. Efficient GFP expression in the mushrooms *Agaricus bisporus* and *Coprinus cinereus* requires introns. Fungal Genetics and Biology, 42(3): 191-199.
- 4- Burns C., Leach K.M., Elliott M.P., Foster G.D., and Bailey A. 2006. Evaluation of *Agrobacterium*-mediated transformation of *Agaricus bisporus* using a range of promoters linked to Hygromycin resistance. Molecular Biotechnology, 32(2): 129-138.
- 5- Bundock P., Dulk-Ras A.D., Beijersbergen A., and Hooykaas P.J.J. 1995. Trans-kingdom T-DNA transfer from *Agrobacterium tumefaciens* to *Saccharomyces cerevisiae*. EMBO Journal, 14(13): 3206-3214.
- 6- Chang S., and Miles P. G. 2004. Mushrooms cultivation, Nutritional value, Medicinal effect, and environmental Impact, second edition. 2<sup>nd</sup> ed. Bocaaton, CRC press.

- 7- Chelvarforoosh N. 2012. Optimization of the *hph* gene transfer through *Agrobacterium*- mediated in *Agaricus bisporus*. Thesis, University of Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract)
- 8- Chen X., Stone M., Schanghauser C., and Romaine P. 2000. A fruiting body tissue method for efficient *Agrobacterium*-mediated transformation of *Agaricus bisporus*. *Appl. Environmental Microbiology*. 66(10): 4510-4513.
- 9- De Groot M. J. A., Bundock P., Hooykaas P. J. J., and Beijersbergen A. G. M. 1998. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of filamentous fungi. *Nature Biotechnology*, 16(9): 839-842.
- 10- De La Riva, G.A., J.Gonzalez-Cabrera, R. Vazquez-Pardon and C.Ayra-Pardo. 1998. *Agrobacterium tumifaciens*: A natural tool for plant transformation. *Electronic Journal Biotechnology*. 1(3):118-133.
- 11- Farsi, M, Pooriyanfar, H.R. 2012. Cultivation and Breeding of white button mushrooms. jdm Press, Mashhad, Iran. (in Persian with English abstract)
- 12- Hofrichter M. 2002. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology*. 30(4): 454-466.
- 13- Horgen P. A., and Castle A. 2002. The Application and Potential of Molecular Approaches to Mushrooms. *Agricultural Applications*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 3-17.
- 14- Kishi K., Wariishi H., Marquez L., Dunford H.B., and Gold M.H. 1994. Mechanism of manganese peroxidase compound II reduction. Effect of organic acid chelators and pH. *Biochemistry*, 33(29): 8694-8701.
- 15- Leach K., Odo V., Zhan, C., Kim H. K., Henderson K., Warner P., Challen M., and Elliott T. 2004. Progress in *Agaricus bisporus* transformation: *Agrobacterium* methodologies and development of novel marker genes. *Mushroom Science*. 16: 93-102.
- 16- Moloy S. 2004. Sugar transport and water relations of *Agaricus bisporus*. Ph.D Thesis, Cranfield University.
- 17- Micheielse C.B., Arentshorst M., Ram A.F., and Van, den Hondel C.A. 2005. *Agrobacterium* mediated transformation leads to improved gene replacement efficiency in *Aspergillus awamori*. *Fungal Genetics and Biology*, 42(1): 9-19.
- 18- Parvandi M., Farsi M., Mirshamsi A., and Ashrafi, M. 2015. Isolation and cloning of manganese peroxidase (*mnp*) gene from oyster mushroom. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2: 38-54. (in Persian with English abstract)
- 19- Paszczynski A., Huynh V.B., and Crawford R. 1985. Enzymatic activities of an extracellular, manganese-dependent peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *FEMS Microbiology Letters*, 29(1-2): 37-41.
- 20- Romaine C.P., and Schagnhauser C. 2006. Mushroom (*Agaricus bisporus*). *Methods in Molecular Biology*. Vol. 344: *Agrobacterium* Protocols, volume 2, Edited by: Kan Wang, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- 21- Sambrook J., and Russell D.W. 2001. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. 3rd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- 22- Wariishi H., Valli K., and Gold M.H. 1992. Manganese (II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Kinetic mechanism and role of chelators. *Journal of biological chemistry*, 267(33): 23688-23695.
- 23- Xu J. Z., Zhang J. L., Hu K. H. and Zhang W. G. 2013. The relationship between lignin peroxidase and manganese peroxidase production capacities and cultivation periods of mushrooms. *Microb. Biotechnol.* 6(3): 241-7.
- 24- Zeilinger S. 2004. Gene disruption in *Trichoderma atroviride* via *Agrobacterium*-mediated transformation. *Current Genetics*, 45(1): 54-60.



## Investigation on Possibility of Transferring Oyster Mushroom (*Pleurotostreatus*) Manganese Peroxidase Gene (*mnp*) to the White Button Mushroom (*Agaricusbisporus*)

M. Parvandi<sup>1</sup> - M.Farsi<sup>2\*</sup> - M. Ashrafi<sup>3</sup>

Received: 01-06-2016

Accepted: 23-11-2016

**Introduction:** The white button mushroom does not produce remarkable yield in the third flush. Nutritional deficiency and the inability of this mushroom to efficient use of compost are mentioned as its reasons. Basically, compost includes two major food components, lignocellulose and microbial biomass. But this microbial biomass provides just 10% of button mushroom food needs. According to research studies, different enzymes in both white button mushroom and oyster mushroom are responsible for decomposition of lignin compounds in compost media, from begin of mycelium grows to the end of fruiting. Lacase, manganese peroxidase, lignin peroxidase, glyoxal oxidase enzymes contribute to degradation of lignin compounds in degradation mushroom has proven by researchers however it is dependent on mushroom types. Manganese peroxidase enzyme (EC. 1.11.1.13) is an extracellular parser lignin enzyme that has a central peroxidase core. Manganese peroxidase enzyme oxidizes  $Mn^{2+}$  to  $Mn^{3+}$  and then  $Mn^{3+}$  oxidizes phenolic structure to fonoxile radical. Produced  $Mn^{3+}$  is very active and makes complex by chelating organic acids that is produced by mushrooms such as oxalate or malate.  $Mn^{3+}$  ions become stable by helping of these chelates and it can penetrate through materials such as wood. On the other hand, in recent years, plant biotechnology provides new solutions for old problems such as use of microorganisms, particularly using bacteria for gene transfer and improvement of superlatives. For a sample of this method, *Agrobacterium*-mediated transformation system can be noted. In addition, the use of suitable promoters for heterologous genes expression in suitable hosts is an important strategy in functional biotechnology that has been raised in edible mushroom genetic engineering. The lack of efficient and sufficient use of compost, low power of white button mushroom in competition with other rivals, lack of yield per area unit due to production costs, pests and diseases, low flexibility and adaptability with environmental conditions changes are some of the problems that the mushroom reformers are faced. Unlike the great efforts made by researchers, conventional breeding techniques to produce the *A. bisporus* mushroom only have been led to produce a few new races. Therefore, today some problems associated with traditional methods of breeding of edible mushrooms, including the need to provide races that have desired characteristics, the traditional method performance tests and low chances of success in the transfer of important agronomic characteristics such as functionality and disease resistance. So, they almost have been replaced with new biotechnology methods. An example of this method is to manipulate properties transformation for the particular purpose. Modification of both expression or type of lignin degrading enzyme are possible solutions to deal with this problem, but these are not applicable or are difficult to be done with traditional breeding programs. In recent years, gene transformation mediated with *Agrobacterium* routinely is used for gene transformation to mushrooms and is proposed as a method for removing limitations of white button mushroom breeding.

**Materials and Methods:** In this research, the oyster mushroom strain Florida was used as the source of *manganese peroxidase (mnp)* gene and white button mushroom strain 737 gill and cap tissue were used as transformation host. *Agrobacterium* strain LBA4404 harbors p133H88-FM plasmid that contains *mnp* gene of oyster mushroom and also *hph* gene under control of *gpdII* promoter of the button white mushroom strain IM008 was used as a transformer. Selection medium containing 30 mg/ml Hygromycin B and was used for selecting transformed explants. To confirm transformation, PCR with specific primers of *mnp* and *hph* genes was performed on genomic DNA of selected colonies.

**Results and Discussion:** Results showed the gill tissue explants, with transformation rate 5%, have a better response to applied transformation method than cap tissue explants, with transformation rate zero percent. As expected, polymerase chain reaction with specific primers of *hph* and *mnp* genes amplified 1049 and 1086 bp fragments and verified the transformation of mycelium's grown on selection medium. It seems that Bacterial

1 and 2- Graduated M.Sc. and Professor in Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

(\*- Corresponding Author Email: Mohfarsi@yahoo.com)

3- Ph.D Student in Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

strain and also used plasmid were one of the responses for observed low rate transformation which is in accordance with leach and co-workers study. Finally, we could propose that cap tissue is more suitable for further gene transformation of this mushroom because of high transformation rate of cap tissue.

**Keywords:** *Agrobacterium*, Compost, Gene transformation, Lignin degradation, White button mushroom



## بررسی تمایزیابی جوانه‌ها در کیوی رقم‌های هایوارد و توموری

ابراهیم عابدی قشلاقی<sup>\*۱</sup> - ولی ربیعی<sup>۲</sup> - مالک قاسمی<sup>۳</sup> - جواد فتاحی مقدم<sup>۴</sup> - فرهنگ رضوی<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۰۱

### چکیده

هدف این پژوهش مستندسازی زمان تمایزیابی گل‌ها و درک بهتر از تغییرات ریخت‌شناختی در جوانه‌های کیوی رقم‌های هایوارد و توموری بود. این آزمایش در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور (رامسر) روی تاک‌های هایوارد و توموری به مدت دو سال انجام شد. از اواسط اسفند تا اوایل خرداد ماه، جوانه‌های یکسان و هم قطر از جوانه ششم تا بیستم شاخه‌های یک‌ساله با فاصله زمانی ۵ تا ۷ روز انتخاب شدند. بررسی تمایزیابی جوانه‌ها با استفاده از میکروسکوپ استریوزوم انجام شد و مراحل مختلف تمایزیابی جوانه با مرحله ۵ رشد اصلی در مقیاس بی‌بی‌سی‌اچ<sup>۶</sup> توصیف شد. نتایج نشان داد که در سال اول آزمایش اولین علائم سرآغازهای گل در رقم توموری دو روز قبل از مرحله تورم جوانه، حدود یک ماه قبل از شکفتن جوانه مشاهده شد. در حالیکه در رقم هایوارد اولین سرآغازهای گل ۹ روز بعد از آن مشاهده شد. روند تمایزیابی جوانه‌ها و سرآغازهای مختلف اندام‌های زایشی در سال دوم نیز همانند سال اول بود با این تفاوت که تمایزیابی آنها نسبت به سال قبل در هر دو رقم زودتر شروع شد. تمایزیابی سرآغازها در حدود دو ماه قبل از گلدهی و نزدیک مرحله شکفتن جوانه آغاز شد که با مشاهده ظاهری جوانه‌ها تا حدودی می‌توان مرحله نمو اندام‌های مختلف گل را برآورد کرد. شروع گل‌آغازی و دوره تمایزیابی گل‌ها با توجه به رقم و شرایط اقلیمی در سال‌های آزمایش متفاوت بود.

واژه‌های کلیدی: بی‌بی‌سی‌اچ، گل‌آغازی، فنولوژی، مریستم

### مقدمه

گلدهی در طول تابستان دارای ساختمان تمایزیافته رویشی هستند و هیچ اثری از ساختمان تمایزیافته زایشی دیده نمی‌شود (۱۳ و ۲۰). تمایزیابی قابل مشاهده گل‌ها هم‌زمان با رشد شاخه‌های گل‌دهنده، در حدود ۱۰ روز بعد از ظهور شاخه‌های سال جاری - با شش ماه تاخیر بین گل‌انگیزی و تمایزیابی گل - انجام می‌گیرد. در مقابل اسنوبال (۳۲) گزارش کرد که گل‌انگیزی کیوی در تابستان سال قبل اتفاق نمی‌افتد بلکه بلافاصله قبل از گل‌آغازی در بهار انجام می‌گیرد.

نمو گل در کیوی (*Actinidiadeliciosa*) در دو فصل جداگانه انجام می‌شود. هر جوانه محوری بالغ دسته اول که دارای مریستم انتهایی رویشی است، در حدود ۲۳ فلس و سرآغاز برگ، و تقریباً ۱۶ ساختار جانبی دسته دوم دارد که چهار تا از آنها جوانه‌های محوری دسته دوم<sup>۷</sup> و بقیه مریستم‌های ساده گنبدی شکل<sup>۸</sup> هستند (شکل ۱). جوانه محوری بالغ دسته اول در موقع نمو در اوایل بهار به شاخساره تبدیل خواهد شد و هم‌زمان با نمو آن، تعدادی از مریستم‌های ساده گنبدی شکل نمو کرده و به گل یا گل‌آذین تبدیل می‌شوند (۲، ۲۵، ۳۶ و ۳۷). جوانه‌های محوری دسته دوم عموماً باز نمی‌شوند و در زیر

تغییرات از حالت رویشی به زایشی در یک جوانه و در یک بازه زمانی مشخص فقط وقتی ممکن است که یک پیام بیوشیمیایی آغازیدن جوانه گل را تحریک کند (۱۱). آغازیدن و تمایزیابی جوانه گل تحت تاثیر عوامل مختلف قرار دارد. اطلاعات مفیدی در ارتباط با اثر موقعیت جوانه روی تاک (۱۶)، اثر دمای‌های بالا (۳۵)، دسترسی به آب (۷)، سایه‌دهی (۲۸)، و افزایش طول روز (۲۹) در موقع تشکیل جوانه‌های گل وجود دارد. در بیشتر گیاهان چوبی تمایزیابی جوانه گل عمدتاً قبل از ورود به خفتگی زمستان تکمیل می‌شود. در مورد زمان گل‌انگیزی کیوی اختلاف نظر وجود دارد. بیشتر پژوهشگران دریافتند که گل‌انگیزی کیوی در تابستان و حداقل دو ماه قبل از ریزش برگ‌ها انجام می‌شود (۶، ۸، ۱۴ و ۲۹). در کیوی شاخه‌های با پتانسیل

۱، ۲ و ۵ - به ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان. ایران  
(Email: eabedig@yahoo.com) (\*- نویسنده مسئول)

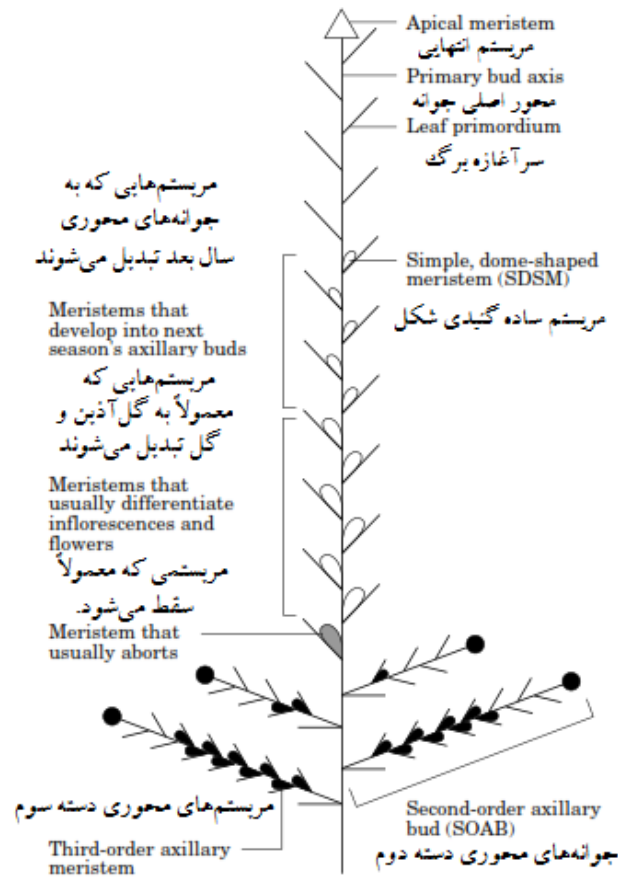
۳ و ۴ - استادیاران موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران

DOI:10.22067/jhorts4.v0i0.58587

6-First-order axillary buds (FOAB)  
7-Second-order axillary buds (SOAB)  
8-Simple, dome-shaped meristem (SDSM)

به هر دلیلی از بین برود (۲ و ۳۶).

فلس‌های جوانه باقی می‌ماند مگر اینکه جوانه محوری بالغ دسته اول



شکل ۱- تصویر الگووار جوانه بالغ محوری دسته اول کیوی رقم هایوارد. تعداد ساختارها تصویری از میانگین هر جوانه است (۳۶)  
Figure 1- Schematic picture of a Hayward mature first-order axillary bud. The numbers of structures depicted are mean numbers per bud (36)

شناخت فنولوژی گل‌ها در کیوی برای برنامه‌های به‌نژادی و درک فرآیندهای تکاملی موثر در نمو اندام‌های گل اهمیت دارد (۱۹). مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' سیستمی جدید برای کدگذاری یکنواخت و شرح مراحل رشد فنولوژیک مشابه در گونه‌های گیاهی است که برای کیوی هایوارد توسط سالیئتورا و همکاران (۲۷) گزارش شده است. ۸ مرحله اصلی رشد کیوی در مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' در جدول ۱ آمده است. هر کدام از این مراحل نیز دارای مراحل ثانویه است. مرحله ۵ رشد اصلی در مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' که مربوط به ظهور گل‌آذین است فقط به صورت طولیل شدن دم‌گل و شکفتن کاسبرگ و گل‌برگ بیان شده است. در این پژوهش سعی شده است که علاوه بر ذکر مراحل مختلف نمو این مرحله که توسط براندل بررسی شده است (۱ و ۲)، زیر مرحله‌های مرحله ۵ رشد اصلی مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' نیز برای نمو اندام‌هایی زایشی داخل هر گل ذکر شود. هدف اصلی از این پژوهش مستندسازی فنولوژی گل‌ها و درک بهتر از تغییرات

در مرحله گل‌آزایی و تمایزیابی کیوی، کاسبرگ‌ها، گل‌برگ‌ها، پرچم‌ها، کلاله و تخمک‌ها بصورت متوالی متمایز شدند (۲). مریستم‌های زایشی در هایوارد ۱۲ روز قبل از شکفتن جوانه و ۵ روز دیرتر از رقم ماتوا (*Actinidiadeliciosacv. Matua*) آغازیده شده و سپس اندازه آن‌ها افزایش یافت. سرآغازی کاسبرگ‌ها قبل از شروع شکفتن جوانه نمایان می‌شوند. سرآغازی گلبرگ‌ها در زمان شکفتن آغازیده شده و گل‌های ماده در حدود یک هفته دیرتر از گل‌های نر شکفته شدند (۱۴). مریستم شاخه، بخش بسیار کوچک و تمایز نیافته‌ای از گیاه است که ساختاری ساده و عملکردی بسیار پیچیده دارد. در برخی از گیاهان مونوپود یال (رشد نامحدود)، مریستم شاخه این توانایی را دارد که رویشی بماند و با پدید آوردن بخش مریستم یدیگر، زمینه ساز آغازش اندام‌های زایشی گردد (۱۳). اطلاع از مراحل مختلف آغازیدن جوانه گل و تغییرات نمو، جهت مدیریت بهتر باغ‌ها در مقابله با تنش‌هایی مانند رطوبت، تغذیه، هرس و غیره با هدف تنظیم میزان میوه‌دهی اهمیت زیادی دارد. هم‌چنین

ریخت شناختی در جوانه‌های کیوی رقم هایوارد و توموری در شرایط آب و هوایی رامسر بود.

جدول ۱- مراحل اصلی فنولوژی در مقیاس 'بی بی سی اچ' در درختان میوه

Table 1-Principal phenological stages in BBCH scale at fruit crops

| مرحله Stage | شرح مرحله Stage description          | مرحله Stage | شرح مرحله Stage description                          |
|-------------|--------------------------------------|-------------|--|
| 0           | Bud development نمو جوانه            | 6           | Flowering گلدهی                                      |
| 1           | Leaf development نمو برگ             | 7           | Fruit development نمو میوه                           |
| 2           | Shoot development نمو شاخه           | 8           | Maturity of fruit بلوغ میوه                          |
| 5           | Inflorescence emergence ظهور گل آذین | 9           | Senescence, شروع خواب, پیری<br>Beginning of dormancy |

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: این آزمایش در یک باغ کیوی ۱۰ ساله کیوی در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور (رامسر) بر روی کیوی رقم ماده هایوارد و رقم نر توموری به مدت دو سال انجام شد. نهال‌های ارقام کیوی با فواصل ۴×۶ متر کشت شده و به فرم T تربیت شده‌اند. همه‌ی مراقبت‌های داشت شامل تغذیه، آبیاری، هرس و غیره برای همه درختان به طور یکسان انجام گرفت.

نمونه‌برداری: برای دو سال متوالی از اوایل اسفند تا اواخر فروردین ماه سال‌های ۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵، جوانه‌های یکسان و هم قطر از جوانه ششم تا بیستم شاخه‌های یک‌ساله ارقام هایوارد و توموری (۳۳) با فاصله زمانی ۷ تا ۱۰ روز انتخاب و نمونه‌برداری شد. در هر مرحله نمونه‌گیری حداقل ۳۰ جوانه انتخاب و در محلول تثبیت کننده حاوی فرمالین، اتانول ۷۰ درجه، واسیداستیک گلاسیال (نسبت حجمی ۱:۵:۲) غوطه‌ور و تا زمان آزمایش داخل یخچال نگهداری شد (۱۴).

ارزیابی فنولوژی: کرک‌های بسیار مترکم داخل جوانه زیرمیکروسکوپ استریوزوم مدل Nikon SMZ645، بدون آسیب رساندن به سرآغازهای محوری گل‌ها، به صورت دستی حذف شدند. به این صورت که یک برش افقی به داخل و اطراف پایه پوشش جوانه ایجاد شد، به طوری که کل محتویات بالای جوانه همراه با کشیدن و پیچش آرام کرک‌ها برداشته شد، این فرآیند سبب شد که بیشتر سرآغازهای گل در محور پایه جوانه نمایان شود. باقی مانده کرک‌ها با استفاده از سوزن تشریح برداشته شد. در هر مرحله ۱۵ جوانه از لحاظ زمان تشکیل سرآغاز گل، سرآغازه براكته، سرآغازه کاسبرگ‌ها، سرآغازه گلبرگ‌ها، سرآغازه پرچم‌ها، آغازیدن کلاله و آغازیدن تخمک بررسی شدند. همه شکل‌های میکروسکوپی به غیر شکل A- و L-۴ با بزرگ‌نمایی ۵۰ عکس‌برداری شدند. برای درک بهتر زمان تمایزیابی و نمو قسمت‌های مختلف گل و

گل آذین در داخل جوانه، تغییرات میکروسکوپی سرآغازه‌های گل با مراحل فنولوژی جوانه (شکل ۲) بر اساس تقسیم بندی براندل (۱) و مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' (۲۷) شرح داده شد.

## نتایج و بحث

در بررسی جوانه تاک‌های رقم توموری، تا قبل از هفدهم اسفند ماه سال ۱۳۹۳ هیچ علائمی از گل‌آغازی مشاهده نشد (شکل B-۳). اولین علائم سرآغازه‌های گل ۲ روز قبل از مرحله ۰۱ نمو جوانه (تورم جوانه)، در بیست‌ویکم اسفندماه، حدود یک ماه قبل از شکفتن جوانه مشاهده شد. درحالی‌که در رقم هایوارد اولین سرآغازه‌های گل در اول فروردین ماه ۱۳۹۴ (۹ روز دیرتر) مشاهده شد.

اولین نشانه بعد از تغییر شکل مریستم (شکل‌های C-۳ و D-۳) نمو گل با طویل شدن سرآغازه محوری و آغازیدن براكته‌های کناری همراه بود (شکل E-۳) که با مرحله فنولوژی پیشرفته تورم جوانه (مرحله ۰۳) هم‌زمان است (شکل ۲). با نمو بعدی جوانه، قسمت‌های مختلف گل به صورت آکروپتال از آغازیدن و نمو کاسبرگ‌ها تا نمو کلاله ادامه یافت. در مرحله شکفتن جوانه (مرحله ۰۷)، قبل از آغازیدن گل‌برگ‌ها (شکل G-۳)، سرآغازه گل‌های جانبی گل آذین تشکیل شد (شکل F-۳). در برخی موارد، در گل آذین کیوی رقم هایوارد گل‌های جانبی آغازیده می‌شود که ممکن است در مراحل مختلف نمو، این گل‌ها سقط شوند (۲ و ۲۵). در مرحله شکفتن پیشرفته جوانه (مرحله ۰۹) آغازیدن پرچم‌ها در ۲ ردیف در رقم هایوارد و در ۳ ردیف در رقم توموری تشکیل شد (شکل I-۳). در حدود ۲۴-۲۵ روز بعد از مرحله تورم جوانه، هم‌زمان با باز شدن خوشه (مرحله ۱۰)، کلاله آغازیده شد (شکل ۲). نتایج حاصل از این آزمایش در ارتباط با نحوه تمایزیابی اندام‌های گل و اختلاف زمانی در بین ارقام با آزمایشات دیگر انجام گرفته در مورد ارقام کیوی مطابقت داشت (۲ و ۲۵).



جدول ۲- پیشرفت تمایزیابی جوانه کیوی رقم 'توموری' در سال‌های ۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵  
Table 2- Bud differentiation progression of *Actinidiadeliciosacv.* 'Tomuri' in 2015 and 2016.

| مرحله فنولوژی<br>Phenology stage           | کد مرحله<br>Stage | ۱۳۹۳-۹۴<br>2015  | ۱۳۹۴-۹۵<br>2016  |
|--|-------------------|------------------|------------------|
| Dormant رکود                               | 00*               | Before 2015.3.14 | Before 2016.3.11 |
| Bud swell تورم جوانه                       | 01                | 2015.3.14        | 2016.3.11        |
| Advanced bud swell تورم پیشرفته جوانه      | 03                | 2015.3.22        | 2016.3.16        |
| Before of budburst قبل از آغاز شکفتن       | 05                | 2015.3.29        | 2016.3.21        |
| Budburst آغاز شکفتن جوانه                  | 07                | 2015.4.3         | 2016.3.24        |
| Advanced bud burst شکفتن پیشرفته جوانه     | 09                | 2015.4.5         | 2016.3.26        |
| Open cluster باز شدن خوشه                  | 10                | 2015.4.10        | 2016.3.28        |
| Advanced open cluster باز شدن پیشرفته خوشه | 11                | 2015.4.12        | 2016.3.29        |
| Tight flower bud دکمه‌ای شدن جوانه گل      | 51                | 2015.4.15        | 2016.4.5         |
| Sepals begin to separate ترکیدن کاسبرگ‌ها  | 55                | 2015.5.5         | 2016.5.4         |
| Corolla at balloon stage بالون             | 57                | 2015.5.22        | 2016.5.10        |

\*Numbers indicate secondary stages of BBCH.

\*اعداد نشان دهنده مراحل فرعی رشد جوانه در مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' است.

۱۳۹۴-۹۵ در جدول ۳ آمده است. در رقم توموری مرحله فنولوژی شکفتن پیشرفته جوانه (مرحله ۰۹) در سال اول آزمایش نسبت به سال دوم ۹ روز و مرحله بالون گل‌ها (مرحله ۵۷) ۱۲ روز با تاخیر همراه بود (جدول ۲) که همین مراحل برای رقم هایوارد به ترتیب ۱۰ و ۱۰ روز بود (جدول ۳)

نمو جوانه‌ها و تمایزیابی سرآغازهای مختلف درون آن برای ارقام هایوارد و توموری در دو سال متوالی یکسان بود، اما با توجه به شرایط اقلیمی در سال‌های مورد آزمایش، زمان شروع و طول دوره نمو و تمایزیابی سرآغازها و اندام‌های گل متفاوت بود که میانگین زمان هر مرحله فنولوژی برای سال ۱۳۹۳-۹۴ در جدول ۲ و برای سال

جدول ۳- پیشرفت تمایزیابی جوانه کیوی رقم هایوارد در سال‌های ۱۳۹۳-۹۴ و ۱۳۹۴-۹۵  
Table 3- Bud differentiation progression of *Actinidiadeliciosacv.* 'Hayward' in 2015 and 2016.

| مرحله فنولوژی<br>Phenology stage           | کد مرحله<br>Stage | ۱۳۹۳-۹۴<br>2015  | ۱۳۹۴-۹۵<br>2016  |
|--|-------------------|------------------|------------------|
| Dormant رکود                               | 00*               | Before 2015.3.22 | Before 2016.3.16 |
| Bud swell تورم جوانه                       | 01                | 2015.3.22        | 2016.3.16        |
| Advanced bud swell تورم پیشرفته جوانه      | 03                | 2015.3.29        | 2016.3.21        |
| Before of budburst قبل از آغاز شکفتن       | 05                | 2015.4.3         | 2016.3.26        |
| Budburst آغاز شکفتن جوانه                  | 07                | 2015.4.8         | 2016.3.30        |
| Advanced bud burst شکفتن پیشرفته جوانه     | 09                | 2015.4.13        | 2016.4.3         |
| Open cluster باز شدن خوشه                  | 10                | 2015.4.15        | 2016.4.9         |
| Advanced open cluster باز شدن پیشرفته خوشه | 11                | 2015.4.17        | 2016.4.13        |
| Tight flower bud دکمه‌ای شدن جوانه گل      | 51                | 2015.4.25        | 2016.4.17        |
| Sepals begin to separate ترکیدن کاسبرگ‌ها  | 55                | 2015.5.22        | 2016.5.10        |
| Corolla at balloon stage بالون             | 57                | 2015.5.24        | 2016.5.14        |

\*Numbers indicate secondary stages of BBCH.

\*اعداد نشان دهنده مراحل فرعی رشد جوانه در مقیاس 'بی‌بی‌سی‌اچ' است.

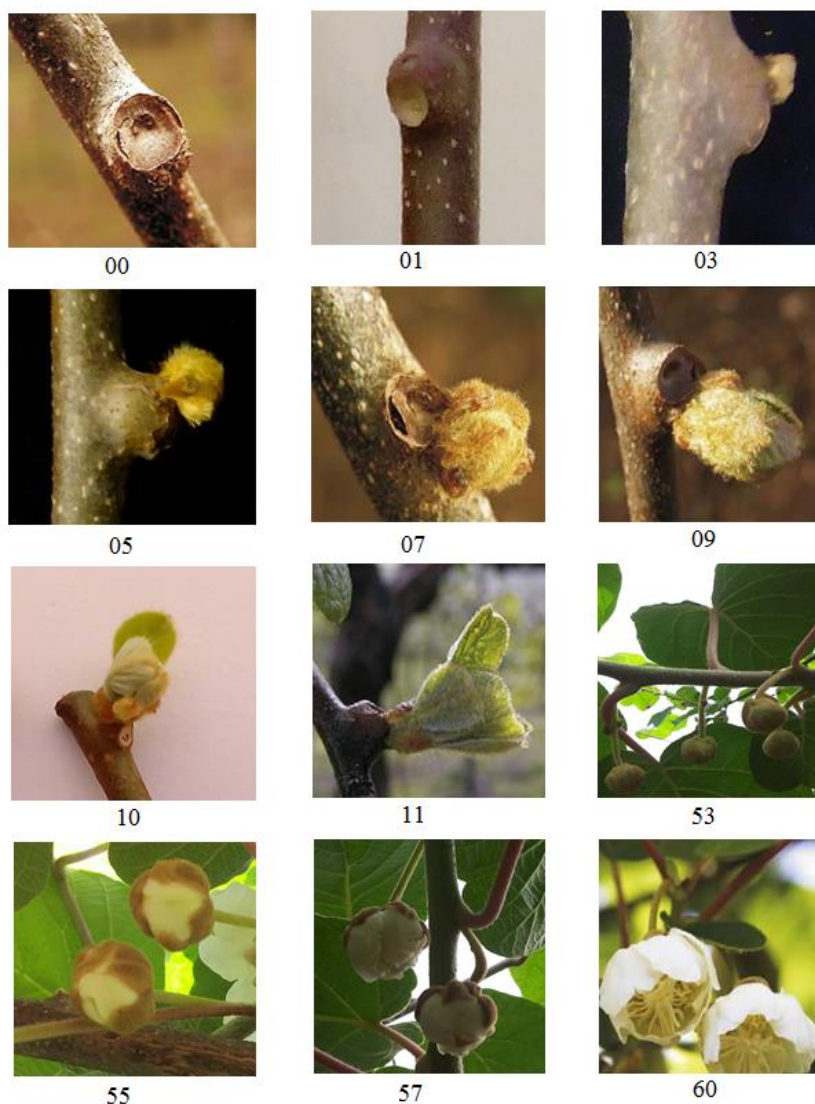
جوانه (مرحله ۰۳) هیچ علائمی از تشکیل کاسبرگ دیده نشد ولی در رقم هایوارد بررسی شده در غرب ترکیه، حدود ۵ درصد جوانه‌ها دارای سرآغاز کاسبرگ بودند (۱۴). از طرفی در مرحله شکفتن جوانه (مرحله ۰۷)، در رقم هایوارد حدود ۵۶ درصد سرآغازهای گلبرگ‌ها

قبل از شروع تورم جوانه (مرحله ۰۱) در گل‌های هایوارد هیچ علائمی از سرآغازهای گل مشخص نبود در حالیکه در جوانه‌های رقم توموری در حدود ۸۰ درصد سرآغازهای گل قابل تشخیص بود. در این آزمایش، در حالیکه در رقم هایوارد در مرحله نمو تورم پیشرفته

شدن پیشرفته جوانه (مرحله ۱۱) در سال اول برای رقم هایوارد ۲۵ روز و برای رقم توموری ۲۸ روز و در سال دوم به ترتیب ۲۷ و ۱۸ روز بود. فاصله زمانی بین تورم جوانه تا باز شدن پیشرفته خوشه (مرحله ۱۱) در ارقام هایوارد و ماتوا در ترکیه ۴۰ روز (۱۴)، در رقم هایوارد در نیوزلند ۲۵ روز و در رقم نر آلفا چند روز زودتر گزارش شد (۲).

تشکیل شدند (جدول ۳) اما در این مرحله و در همین رقم هیچ سرآغاز گلبرگی در غرب ترکیه تشکیل نشد (۱۴).

در این آزمایش علاوه بر اینکه فاصله زمانی بین برخی از مراحل نمو اندام‌های زایشی ارقام هایوارد و توموری در سال‌های آزمایش متفاوت بود (جدول ۲ و ۳)، با فاصله زمانی مراحل نمو در برخی از مناطق تفاوت داشت. فاصله زمانی بین تورم جوانه (مرحله ۰۱) و باز



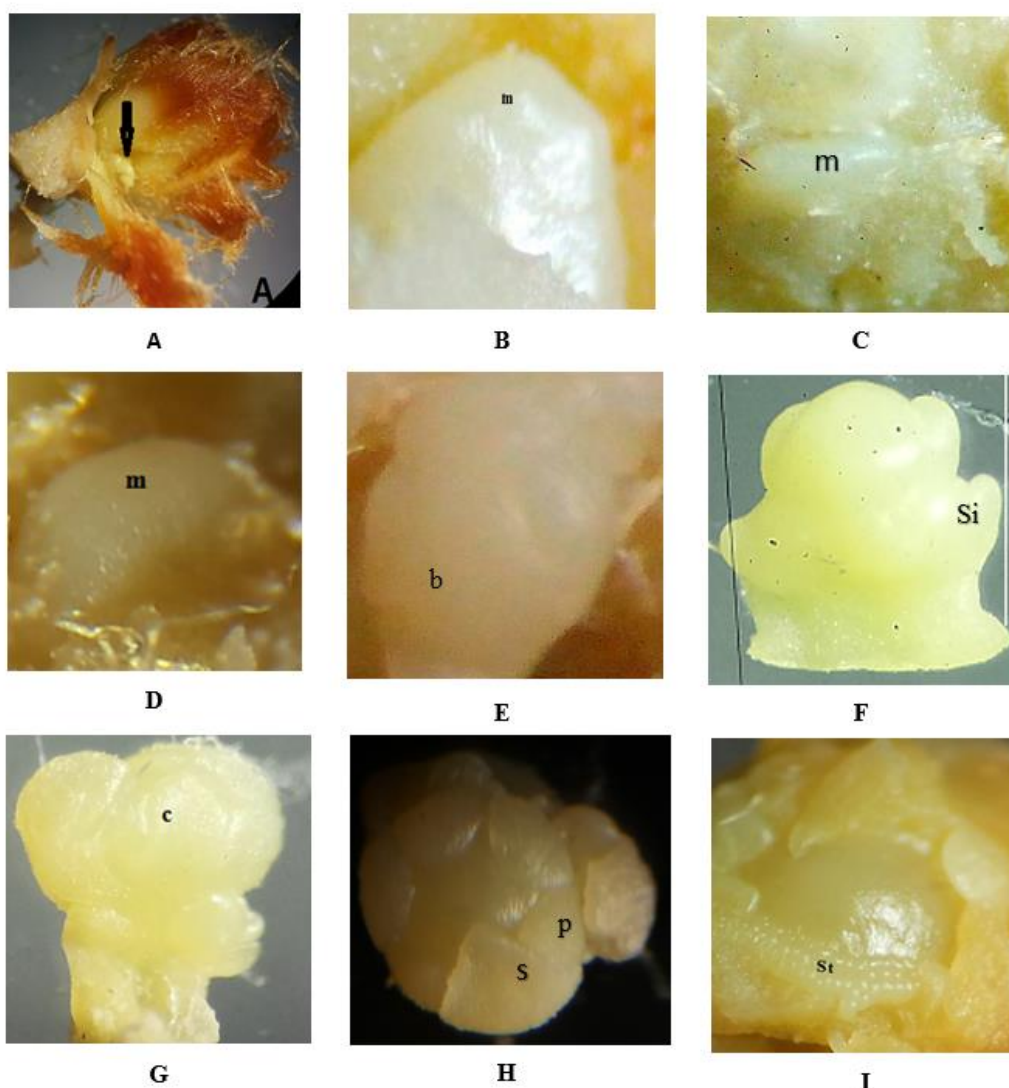
شکل ۲- برخی از مراحل رشد فنولوژی کیوی رقم هایوارد بر اساس مقیاس 'بی بی سی ایچ'  
Figure 2- Some phenological growth stages of Hayward kiwifruit according to BBCH scale

سرمایی تاک‌ها در زمستان درصد گلدهی را افزایش می‌دهد و باعث یکنواختی کاهش دوره گلدهی می‌شود (۳۱). با تامین نیاز سرمایی، رکود جوانه‌ها شکسته شده و گل‌آغازی و تمایزبندی اندام‌های زایشی داخل جوانه‌ها شروع می‌شود. برای تامین نیاز سرمایی کیوی دماهای تا ۱۰ درجه سانتیگراد رضایت‌بخش گزارش شده است (۲۲). بررسی

اگرچه زمان آغازیدن و تمایزبندی زایشی مریستم ژنتیکیست و در ارقام مختلف متفاوت است، اما به‌وسیله عوامل محیطی مختلف به‌ویژه مدت و زمان دماهای سرد و گرم تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۲۴ و ۲۰). یکی از دلایل این اختلاف نمو بین مراحل و ارقام مختلف می‌تواند ناشی از تامین نیاز سرمایی و تجمع نیاز گرمایی باشد (۴). تامین نیاز

و ۶۰ و ۶۸ بخش سرما برآورد شد. بنابراین به نظر می‌رسد یکی از دلایل تسریع گل‌آغازی و تمایزیابی اندام‌های زایشی در سال ۱۳۹۴ نسبت به سال ۱۳۹۳ (جدول ۲) نتیجه تامین زودتر نیاز سرمایی و پایان رکود آن‌ها باشد.

دماهای ساعتی در پاییز-زمستان سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ نشان داد که دماهای موثر بر تامین نیاز سرمایی جوانه‌ها در سال ۱۳۹۳ نسبت به سال ۱۳۹۴ کم‌تر اتفاق افتاد. میزان سرمای تامین شده بر اساس مدل‌های یوتا و دینامیک (۱۸) از اوایل آبان ماه تا اواسط بهمن ماه سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ به ترتیب ۱۱۳۴ و ۱۵۳۰ واحد ریچاردسون،



شکل ۳- تغییرات نمودی در موقع گل‌آغازی در کیوی ارقام 'هایوارد' و 'نوموری'. A: مریستم‌های جانبی؛ B: مریستم رویشی؛ C: شروع تغییرات از مرحله رویشی به زایشی؛ D: مریستم زایشی، m مریستم گنبدی شکل؛ E: آغازیدن براکته‌ها F: آغازیدن گل‌های فرعی (Si)؛ G: آغازیدن کاسبرگ‌ها، c کاسبرگ؛ H: آغازیدن گلبرگ‌ها؛ I: آغازیدن پرچم‌ها

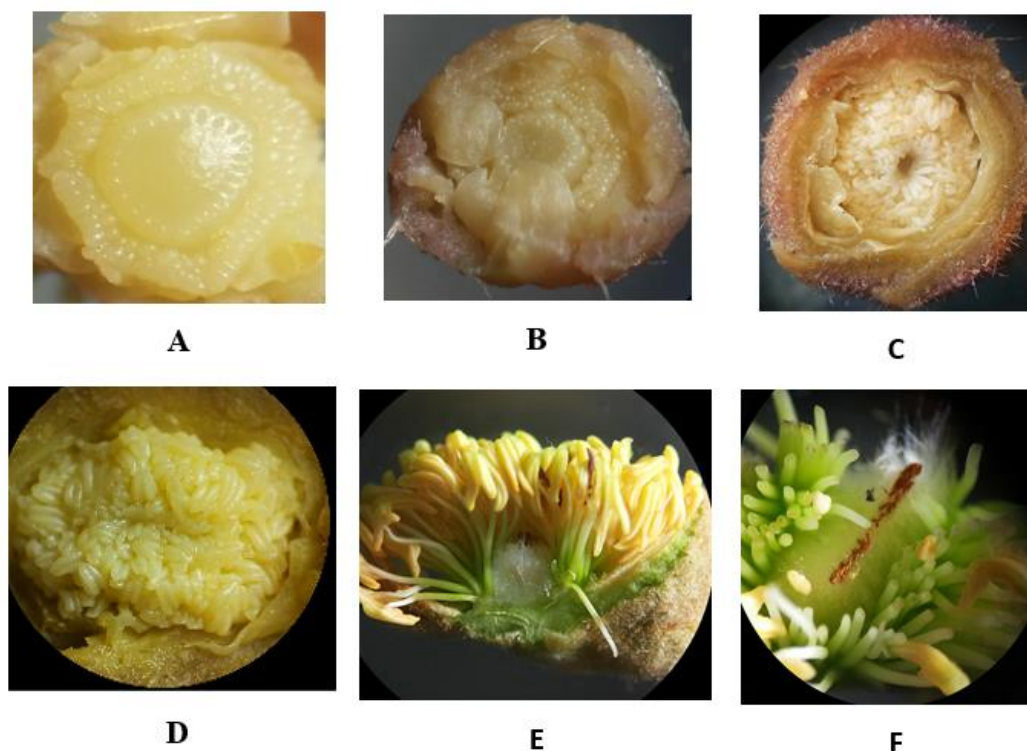
Figure 3- Developmental changes during flower initiation in kiwifruit cvs. 'Hayward' and 'Tomuri'. A: axillary meristem, B: Vegetative meristem, C: Initial phase of change from vegetative to reproductive stage, D: Reproductive meristem, rounded meristem (m), E: Bracts initiation, F: Lateral flowers initiation (Si), G: Sepal (s) initiation (c), H: Petal (p) initiation, I: Stamen (st) initiation

سرمایی و به تبع آن بر زمان تمایزیابی جوانه‌ها موثر هستند. بارندگی باعث کاهش نیاز سرمایی جوانه‌ها می‌شود، ممکن است اثر آن به دلیل کاهش دمای جوانه و یا کاهش اکسیژن قابل دسترس جوانه (مانند اثر

با توجه به اثر تامین نیاز سرمایی در نمو جوانه‌ها (۳۱)، ممکن است هر عاملی که نیاز سرمایی جوانه‌ها را تحت تاثیر قرار دهد، به طور غیرمستقیم در تمایزیابی آنها موثر باشد. عوامل مختلفی بر نیاز

کربوهیدرات‌ها در شاخه‌های هوایی گیاه باشد (۱۱). از طرف دیگر، نمو گل کیوی ممکن است با عدم دسترس به ذخایر کربوهیدرات در بهار محدود شود. در یک پژوهش انجام شده (۳۹) غلظت کربوهیدرات در شاخساره تمام ترکیب‌های پیوندی مشابه بوده اما در ریشه پایه‌های تشدید کننده گلدهی بیشتر از پایه‌های دیگر برآورد شد. پایه‌های تشدید کننده گلدهی از طریق فراهم کردن ذخایر کربوهیدرات برای نمو گل‌ها، میزان سقط گل‌ها را در بهار کاهش می‌دهند.

سیانامید کلسیم) باشد (۹). واکنش سرمایی پیوندکبرای شکفتن جوانه می‌تواند بوسیله نیاز سرمایی پایه‌هائیز تحت تاثیر قرار گیرد (۳۸). پایه‌های پاکوتاه یا پایه‌های با رابطه خویشاوندی دور با پیوندک، می‌توانند باعث تسریع گلدهی و شکفتن زودتر جوانه‌ها شوند. این موضوع ممکن است به علت انتقال یک عنصر متحرک در آوند آبکش (یا یک پیام شیمیایی) باشد که در ریشه‌ها ساخته می‌شود. (۲۳). اثر پایه‌ها بر زمان تمایزیابی و شکفتن جوانه‌ها ممکن است از طریق سنتز هورمون سائتوکنین و تاثیر بر میزان و نحوه انتقال



شکل ۴- تغییرات نمودی در زمان تمایزیابی اندام‌های گل کیوی رقم توموری A: آغازیدن پرچم‌ها، B: نمو پرچم‌ها، C: تشکیل کیسه‌های گرده، D: طولیل شدن میله پرچم‌ها، E: تشکیل دانه‌های گرده، F: میله‌های توپر پرچم‌ها و خامه و کلاله‌های نابالیده

Figure 4- Developmental changes during flower differentiation of kiwifruit cv. 'Tomuri'. A: Stamens initiation, B: Stamens differentiation, C: Pollen bags formation, D: Elongation of stamens filament. E: Pollen grains formation. F: Solid filaments and rudimentary stigma

درجه‌ای دمای اطراف تاک‌های کیوی به مدت ۴۱ روز شکفتن جوانه و دوره گلدهی به ترتیب به مدت ۷ و ۱۴ روز نسبت به تاک‌های شاهد تسریع شد. با این وجود، این تیمار گرمایی درصد شکفتن جوانه یا تعداد گل در هر شاخه گل‌دهنده را تحت تاثیر قرار نداد (۳۰).

پژوهش‌ها نشان داد که زمان شکفتن جوانه‌های پیوندک از طریق فشار ریشه‌ای پایه تحت تاثیر قرار گرفت، به طوری که در بررسی اثر ۸ پایه در شکفتن جوانه‌های کیوی هایوارد، گونه *A. hemsleyana* بیشترین و گونه *A. kolomikta* کمترین فشار ریشه را نشان داد، و *A. hemsleyana* فشار ریشه‌ای خود را زودتر از پایه‌های دیگر (با

ارقامی که نیاز گرمایی بیشتری دارند، تمایزیابی مریستم زایشی به اندام‌های گل در مدت زمان طولانی‌تری انجام خواهد شد و فاصله زمانی بین مراحل نیز طولانی‌تر خواهد بود (۴). نیاز گرمایی برایشکفتن‌اویلین‌جوانهدررقم 'گلدن دارگون' ۹۵۰۰<sup>۱</sup> ساعت، رقم 'گلدن سان شاین' ۱۵۰۰۰<sup>۲</sup> ساعت، و رقم هایوارد ۱۳۰۰۰ ساعت گزارش شد (۳۳). در حدود ۲ هفته قبل از شکفتن طبیعی جوانه‌ها، با افزایش ۵

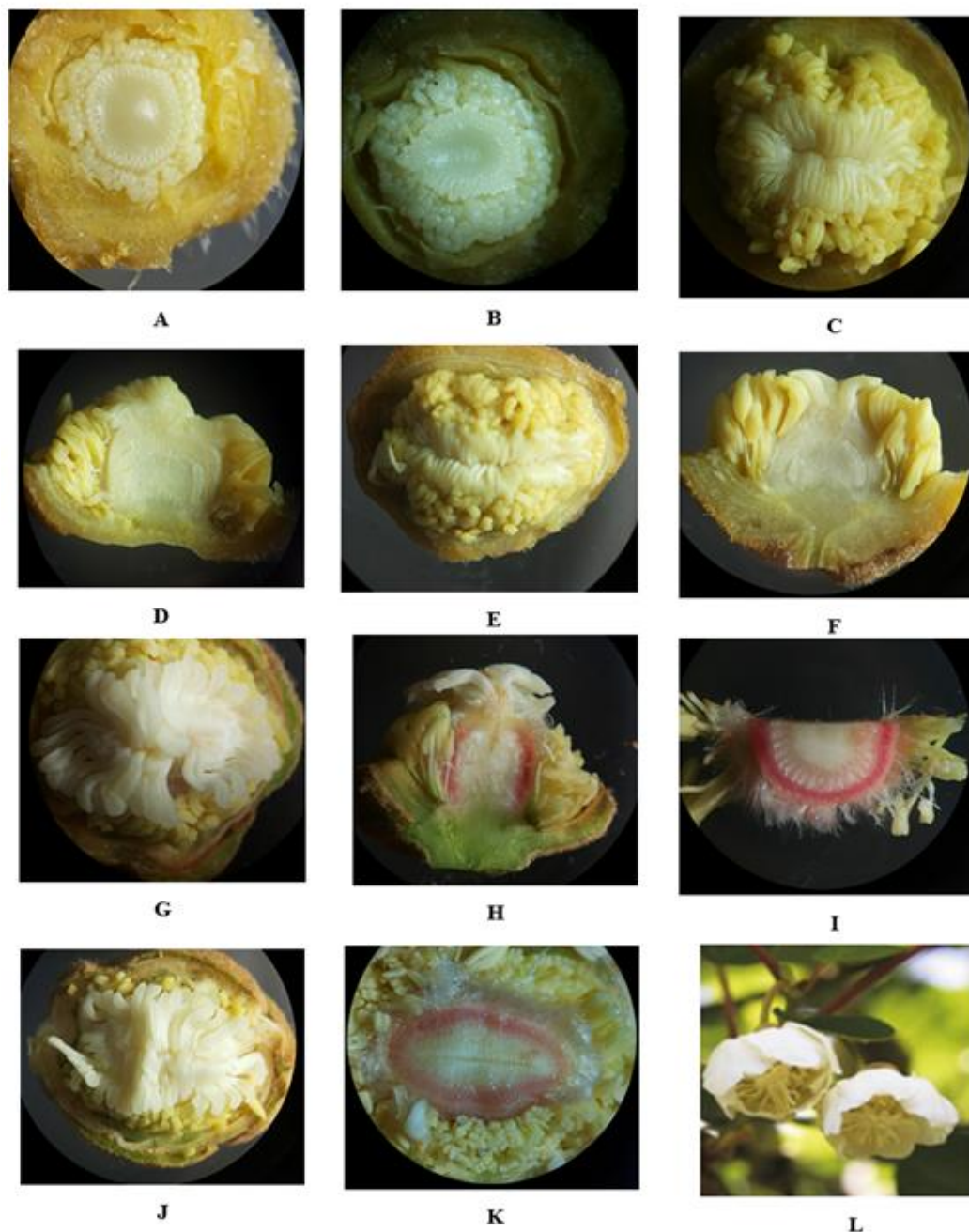
1-Golden Dragon

2- Golden Sunshine



تحت تاثیر پایه نیز قرار گیرد. اما در این آزمایش هر دو رقم هایوارد و توموری حاصل از قلمه‌های ریشه‌دار شده بودند و از هیچ پایه‌ای استفاده نشده بود.

توجه به زمان شکفتن ۵۰ درصد جوانه‌ها) به پیوندک اعمال کرد (۵). از آنجایی که زمان تمایزیابی مریستم‌ها تحت تاثیر زمان شکفتن جوانه‌ها است، بنابراین تمایزیابی مریستم‌های زایشی ممکن است



شکل ۵- تغییرات نمودی در زمان تمایزیابی اندام‌های گل کیوی رقم 'هایوارد'  
 Figure 5- Developmental changes during flower differentiation of kiwifruit cv. 'Hayward'

مرحله نمو جوانه‌هاست، تحت تاثیر طول روز و درجه حرارت محل آزمایش است (۲۱ و ۲۶). در مناطق سردتر تغییرات ساکاروز به قندهای هگزوز زودتر از مناطق گرم‌تر انجام شده، در نتیجه نمو

تغییرات غلظت ساکاروز در مریستم‌های کیوی می‌تواند به عنوان شاخص کلیدی در نمو فنولوژی جوانه‌های آن مورد استفاده قرار گیرد (۲۶). اختلاف مشاهده شده در تغییرات غلظت آن که نشان دهنده

جوانه‌ها زودتر شروع می‌شود.

تیمارهای محلول‌پاشی تاک‌های کیوی با سیانامید هیدروژن باعث باز شدن زودتر جوانه‌ها شده و مدت آن را کاهش داد (۲۱). القاء سریع‌تر و زودتر متابولیسم قندها در مریستم جوانه‌های تیمار شده با سیانامید هیدروژن، با اثرات مشاهده شده در شکفتن زودتر و کاهش دوره باز شدن آنها یکنواخت بود. انجینو همکاران (۱۴) گزارش کردند که محلول‌پاشی سیانامید هیدروژن آغازیدن، تمایزیابی و نمو جوانه‌های گل کیوی را تحت تاثیر قرار داد و باعث تسریع و تشدید تمایزیابی اندام‌های گل شد. آنها هم‌چنین گزارش کردند که اثر این تیمار شیمیایی بستگی به غلظت و زمان محلول‌پاشی داشت.

تمایزیابی گل‌های هایوارد و توموری تا مرحله آغازیدن پرچم‌ها در هر دو رقم شبیه هم است (شکل ۳). با پیشرفت تمایزیابی پرچم‌ها و شروع آغازیدن کلاله و مادگی، تمایزیابی گل‌های نر و ماده با همدیگر متفاوت است بطوریکه در رقم نر بیشتر به سمت نمو پرچم‌ها و تشکیل دانه‌گرده (شکل ۴) و در گل‌های ماده به سمت نمو کلاله، تخمدان و تخمک است (شکل ۵).

در مرحله ۵۳ جوانه‌های گل در حال رشد بوده و جوانه هنوز بسته است (شکل ۲)، دمگل مایل به قرمز در حال طولیل شدن است. بساک پرچم‌ها نمو بیشتری کرده و زرد رنگ هستند (شکل C-۵). در قسمت مادگی کیسه‌های جنینی شروع به نمو می‌کنند (شکل D-۵).

در مرحله ۵۵ کاسبرگ‌ها شروع به جدا شدن می‌کنند (شکل ۲). جام گل سفید مایل به سبز به تدریج قابل مشاهده است. دمگل‌های مایل به قرمز همچنان به طولیل شدن ادامه می‌دهند (شکل E-۵). در قسمت مادگی کیسه‌های جنینی نمو بیشتری کرده و در داخل کیسه‌های جنینی سلول تخمزا قدرت باروری دارد (شکل F-۵) بطوریکه گرده افشانی دستی باعث تشکیل میوه و بذر در داخل آن شد.

در مرحله ۵۶ کاسبرگ‌ها به جدا شدن ادامه می‌دهند و دمگل‌ها

طویل و ضخیم می‌شوند. جام گل بلندتر از کاسه گل به وضوح قابل مشاهده است، تغییرات رنگ از سفید مایل به سبز به رنگ سفید است. در این مرحله کلاله تقریباً به اندازه نهایی خود رسیده است (شکل G-۵). بر روی تخمدان پرزهای سفید رنگ قابل مشاهده است و پوست و قسمت فرابر بیرونی تخمدان دارای رنگیزه قرمز می‌باشد (شکل H-۵ و I-۵).

در مرحله ۵۷ جام گل در مرحله بالون هستند و اولین گل‌ها با گلبرگ سفید تشکیل یک توپ توخالی می‌دهند (شکل ۲). یکی از گلبرگ‌ها از بقیه جدا می‌شود. در این مرحله کلاله و مادگی به اندازه نهایی خود رسیده است (شکل J-۵).

در مرحله ۵۹ چند گلبرگ جدا می‌شود ولی مادگی هنوز هم قابل رویت نیست و زیر کلاله‌ها قرار دارد. میله پرچم در گل‌های ماده هایوارد توخالی است. کلاله‌ها از حالت افقی به شکل برافراشته در حال تغییر هستند (شکل K-۵). در مرحله ۶۰ کل‌باز شده (شکل ۲) و جام گل زنگوله‌ای شکل است (شکل L-۵).

### نتیجه‌گیری کلی

دانستن جزئیات زمان گل‌آغازی و نمو گل برای پژوهش و مدیریت درختان میوه اهمیت زیادی دارد. با شناخت مراحل گل‌آغازی و تمایزیابی جوانه‌ها می‌توان مدیریت باغ و عملیات داشت را در زمان بحرانی بهینه کرد، و با برنامه‌ریزی مناسب در کارهای به‌نژادی، با توجه به مرحله مورد نظر، پژوهش‌های سودمندی انجام داد. نتایج این آزمایش نشان داد که گل‌آغازی و تمایزیابی گل‌ها هم‌زمان با آغاز نمو جوانه و طولیل شدن آن در اوایل بهار انجام شد و با توجه به نیاز سرمایی و گرمایی ارقام و شرایط اقلیمی در سال‌های آزمایش نوسان داشت. با مشاهده ظاهری جوانه‌ها تا حدودی می‌توان مرحله نمو اندام‌های مختلف گل را تشخیص داد.

### منابع

1. Brundell D.J. 1975a. Flower development of the Chinese gooseberry (*Actinidiachinensis* Planch.) I. Development of the flowering shoot. *New Zealand Journal of Botany*, 13: 473-483.
2. Brundell D.J. 1975b. Flower development of the Chinese gooseberry (*Actinidiachinensis* Planch.) II. Development of the flower bud. *New Zealand Journal of Botany*, 13: 485-496.
3. Caldwell J. 1989. Kiwifruit performance in South Carolina and effect of winter chilling. *Proceedings of Alabama Fruit and Vegetable Growers Association*, 10:127-129.
4. Campoy J.A., Ruiz D., Cook N.G., Alderman L. and Egea J. 2011. High temperatures and time to budbreak in low chill apricot 'Palsteyn'. Towards a better understanding of chill and heat requirements fulfillment. *Scientia Horticulturae*, 129:649-655.
5. Clearwater M.J., Blattmann P., Luo Z. and Lowe R.G. 2007. Control of scion vigour by kiwifruit rootstocks is correlated with spring root pressure phenology. *Journal of Experimental Botany*, 58(7):1741-1751.
6. Davison R.M. 1977. Flowering and pollination in kiwifruit. *Citrus and Subtropical Seminar*, Waitangi, 1977. Ministry of Agriculture and Fisheries (Whangarei), New Zealand, 1-6.
7. Engin H. 2006. Scanning electron microscopy of floral initiation and developmental stages in 'Glohaven' peach

- (*Prunuspersica* L.) under water deficit. Bangladesh Journal of Botany 35:163-168.
8. Engin H., Gökbayrak Z. and Dardeniz A. 2010. Effects of Hydrogen Cyanamide on the Floral Morphogenesis of Kiwifruit Buds. Chilean Journal of Agricultural Research 70(3):503-509.
  9. Erez A. 2000. Bud dormancy; phenomenon, problems and solutions in the tropics and subtropics. p. 17-48. In: Temperate Fruit crops in Warm Climates. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.
  10. Fabbri A., Lisetti M. and Benelli C. 1991. Studies on flower induction in kiwifruit. *ActaHorticulturae*, 297: 217-222.
  11. Faust M. 1989. Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons, New York.
  12. Ferguson A.R. 1984. Kiwifruit, A botanical review. Horticulture Review, 6:1-64.
  13. Gerrath J.M. and Posluszny U. 2007. Shoot architecture in the vitaceae. Canadian Journal of Botany, 85: 691-700.
  14. Gökbayrak Z., Soylemezoglu G., Engin H. and Dardeniz A. 2010. Examination of Flower Bud Differentiation and Development in Kiwifruit. Journal of Biology and Life Sciences, 1(1):1-4.
  15. Hopping M.E. 1990. Floral biology, pollination, and fruit set. p. 71-96. In: Warrington, I. J. and Weston, G.C. (Eds). Kiwifruit: Science and management. Ray Richards, in association with the New Zealand Society for Horticultural Science.
  16. Lebon E., Pellegrino A., Tardieu F. and Lecoeurs J. 2004. Shoot development in grapevine (*Vitisvinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra-and inter-shoot trophic competition. Annals of Botany, 93:263-274.
  17. Linsley-Noakes G.C. and Allan P. 1987. Effects of Winter Temperatures on Flower Development in Two Clones of Kiwifruit (*Actinidiadeliciosa* (A. Chev.) C.F. Liang et A.R.Ferguson), *ScientiaHorticulturae*, 33:249-260.
  18. Luedeling E. and Brown P.H. 2011. A global analysis of the comparability of winter chill models for fruit and nut trees. International Journal of Biometeorology, 55:411-421.
  19. McNeilage M.A. 1991. Gender variation in *Actinidiadeliciosa*, the kiwifruit. Sexual Plant Reproduction 4:267-273.
  20. McPherson H.G., Snelgar W.P., Manson P.J. and Snowball A.M. 1997. Bud respiration and dormancy of kiwifruit (*Actinidiadeliciosa*). Annals of Botany, 80: 411-418.
  21. McPherson H.G., Richardson A.C., Snelgar W.P. and Currie M.B. 2001. Effects of hydrogen cyanamide on budbreak and flowering in kiwifruit (*Actinidiadeliciosa* 'Hayward'). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 29: 277-285.
  22. McPherson H.G., Stanley C.J. and Warrenton I.J. 1995. The response of budbreak and flowering to cool winter temperatures in kiwifruit (*Actinidiadeliciosa*). Journal of Horticultural Science, 70: 737-47.
  23. Melke A. 2015. The Physiology of Chilling Temperature Requirements for Dormancy Release and Bud-break in Temperate Fruit Trees Grown at Mild Winter Tropical Climate. Journal of Plant Studies, 4(2): 110-156.
  24. Okie W.R. and Blackburn B. 2011. Increasing chilling reduces heat requirement for floral budbreak in peach. HortScience, 46:245-252.
  25. Polito V.S. and Grant J.A. 1984. Initiation and development of pistillate flowers in *Actinidiachinensis*. *ScientiaHorticulturae*, 22: 365-371.
  26. Richardson A.C., Walton E.F., Meekings J.S. and Bolding H.L. 2010. Carbohydrate changes in kiwifruit buds during the onset and release from dormancy. *ScientiaHorticulturae*, 124: 463-468.
  27. Salineroa M.C., Velaa P. and Sainzb M.J. 2009. Phenological growth stages of kiwifruit (*Actinidiadeliciosa* 'Hayward'). *ScientiaHorticulturae*, 121:27-31.
  28. Snelgar W.P., and Manson P.J. 1992. Determination of the time of flower evocation in kiwifruit vines. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 20:439-447.
  29. Snelgar W.P., Clearwater M.J., and Walton E.F. 2007. Flowering of kiwifruit (*Actinidiadeliciosa*) is reduced by long photoperiods. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 35: 33-38.
  30. Snelgar W.P., Bayley G.S. and Manson P.J. 1988. Temperature studies on kiwifruit vines using relocatable greenhouses, New Zealand Journal of Experimental Agriculture, 16: 329-339.
  31. Snelgar W.P., Manson P.J. and McPherson H.G. 1997. Evaluating winter chilling of kiwifruit using excised canes. Journal of Horticultural Science, 72(2):305-315.
  32. Snowball A.M. 1995. The seasonal of leaf, shoot and bud development in kiwifruit. Journal of Horticultural Science, 70: 787-797.
  33. Wall C., Dozier W., Ebel R.C., Wilkins B., Woods F. and Foshee W. 2008. Vegetative and Floral Chilling Requirements of Four New Kiwi Cultivars of *Actinidiachinensis* and *A. deliciosa*. HortScience, 43(3): 644-647.
  34. Walser, R.H., Walker, D.R. and Seeley, S.D. 1981. Effect of temperature, fall defoliation, and gibberellic Acid on the rest period of peach leaf buds. Journal of American Society for Horticultural Science, 106: 91-94.
  35. Walton E.F. and Fowke P.J. 1993. Effect of hydrogen cyanamide on kiwifruit shoot flower number and position. Journal of Horticultural Science, 68: 529-534.
  36. Walton E.F., Fowke P.J., Weis K. and McLeay P.L. 1997. Shoot axillary bud morphogenesis in kiwifruit

- (*Actinidiadeliciosa*). Annals of Botany, 80: 13-21.
37. Watanabe K. and Takahashi B. 1984. Flower bud differentiation and development of Kiwi (*Actinidiachinensis* Planch.). Journal of the Japanese Society of Horticultural Science, 53:259-264.
  38. Young E. and Werner D.J. 1985. Chill unit and growing degree hour requirements for vegetative bud break in six apple rootstocks. Journal of American Society for Horticultural Science, 110: 411-413.
  39. Zhongyan W. 1992. Mechanism of rootstock effects on flowering in kiwifruit. Ph.D. Thesis. University of Auckland.





## Study of Bud Differentiation in Hayward and Tomuri Cultivars of Kiwifruit

E. Abedi Gheshlaghi<sup>1\*</sup> - V. Rabiei<sup>2</sup> - M. Ghasemi<sup>3</sup> - J. Fattahi Moghaddam<sup>4</sup> - F. Razavi<sup>5</sup>

Received: 01-10-2016

Accepted: 21-12-2016

**Introduction:** It is important to understand the structural events associated with flower morphogenesis in horticultural plants, because it has many aspects of practical horticultural significance. Information about different stages of flower initiation and development is important for better management of the vineyards and fruit set. Knowledge of floral ontogeny in kiwifruit is also important for the establishment of breeding programs and for the understanding of the evolutionary processes involved in the development of the floral organs. The main objective of this study was documentation of the differentiation stages of flower buds for better understanding of morphological and external changes in (*Actinidia deliciosa* [A. Chev.] C.F. Liang & A.R. Ferguson var. *deliciosa*) cvs. Hayward (female) and Tomuri (male).

**Materials and Methods:** The experiment was carried out over two years in a mature 'Hayward' and 'Tomuri' kiwifruit vineyard at the Citrus and Subtropical Research Center of Iran (Ramsar city). Pistillate and staminate flowers development was followed from the stage of undifferentiated primordia, present in the axils of leaf primordia in dormant buds since mid-March to early June 2015 and 2016. Equally buds in diameter and size from sixth to twentieth buds on one-year old cane of Hayward and Tomuri selected at 5 to 7 days intervals. They were sampled and fixed in a solution of formalin, ethanol 70%, glacial acetic acid (2:5:1 FAA) then stored in refrigerator. Fifteen buds of each sample dissected under a Nikon SMZ645 stereo zoom microscope. The very dense pubescence within the buds was removed manually without damaging the axillary flower primordia. The remaining pubescence was removed using dissecting needles. Various stages of flower differentiation were explained with principal growth stage 5 of BBCH scale.

**Results and Discussion:** The first signs of the flower on Tomuri were observed 2 days before bud swelling stage (01), on the March 12th, about one month before bud break in 2015. While in the Hayward variety the first signs of the flower primordia were observed on the March 21th of 2015 (9 days later). At the beginning of bud swelling (01), flower primordia begin to differentiation and at advanced bud swelling stage (03), bracts and sepals initiated. As development proceeded, different parts of flowers initiated acropetally. Lateral flowers were formed in the bud break (07), before initiation of petals. In advanced budburst stage (09) stamen primordia appear almost immediately after petal initiation, as two whorls in 'Hayward' and as three whorls in the Tomuri cultivar. Stigma initiated in the open cluster stage (10) in Hayward cultivar about 24-25 days after bud swell stage. The process of differentiation of buds and reproductive organs in the second year was the same as the first year with the exception that differentiation began earlier than that in the first year. Climatic conditions were affected flower development and in the second year primordia differentiation began earlier two days in Tomuri and six days in Hayward than those in the first year. The advanced budburst stage (09) in Tomuri 9 days and in the Hayward 10 days was occurred earlier than that in the first year. Unlike other tree fruits, flower induction in the kiwifruit occurred about 6 months before flower initiation. Flower primordia differentiation initiated shortly before bud break stage and approximately two months before full bloom. Flower initiation and differentiation time may be partly estimated with external changes of buds development. According to cultivar, chilling and heat requirements and climatic conditions during the research, flower initiation and differentiation period have fluctuation. A reason for the difference between the development stages and different varieties can be caused by the chilling and heat requirements. The more heat requirement, the longer reproductive meristem differentiation period.

**Conclusion:** An understanding of the flower initiation and development is very important for the research and management of fruit trees. A knowing of flower initiation and differentiation can be developed corrective vineyard management and practices in crisis period and prepared breeding programs. Tomuri initiated and

1, 2, 5- Ph.D. Candidate in Physiology and Fruit Breeding, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(\*- Corresponding Author Email: eabedig@yahoo.com)

3, 4-Assistant Professors of Horticulture Research Institute, Citrus and Subtropical Research Center, AREEO, Ramsar, Iran

developed their floral organs earlier than those in Hayward. Different external changes in the bud may be partly used to estimate of flower development status. The results showed that flower initiation and differentiation in buds coincided with the beginning of development and elongation of bud in the early of spring.

**Keywords:** BBCH, Flower initiation, Meristem, Phenology

## Contents

|   |     |
|---|-----|
| <b>The Disinfectants effect of Gamma Radiation and Ozone Gas on Microbial Load of Meliss (<i>Melissa officinalis</i>)</b>   | 234 |
| R. Valiasill- M. Azizi- H.Aroiee- M. Bahraini- M. Morabaian   |     |
| <b>Effect of Nano Packaging on Storage Life and Quality Attributes of Elberta Peach</b>   | 245 |
| M.R. Asghari - M. Tohidian  |     |
| <b>Evaluation of Bio-phosphor and Humic Acid on Growth Parameters and Oil Content in Evening Primrose (<i>Oenotherabiennis L.</i>)</b>  | 256 |
| Z. Aghakhani- M. Azizi-H.Aroiee   |     |
| <b>Effect of Plant Growth Regulators and Cold on Improvement of Morphological Characteristics of Cineraria (<i>Pericallis × hybrida</i>)</b>  | 268 |
| K. Bashiri - A. Jowkar  |     |
| <b>The Effect of Salicylic Acid Application on Some Morphological and Physiological Characteristics of Grape Cultivars (<i>Vitis vinifera L.</i>) Under Drought Stress Conditions</b>           | 280 |
| N. Abbaspour - L. Babaei - A.R. Farrokhzad  |     |
| <b>Comparison of Yield of Twelve Basil Cultivars in Two Provinces: Isfahan and Mazandaran</b>   | 291 |
| N. Amoli - A. Hooshang Jalali- P. Jafari  |     |
| <b>Effects of Salinity Stress on Morphological and Physiological Characteristics of some Local Landrace and Inter specific Hybrids of Cucurbits Seedlings as Rootstocks</b>                     | 305 |
| A. Farhadi - H. Aroiee- H. Nemati - R. Salehi - F. Giuffrida  |     |
| <b>Effects of Nitrogen and Nutrient Removal on Nitrate Accumulation and Growth Characteristics of Spinach (<i>Spinacia oleraceae L.</i>)</b>  | 314 |
| M. S. Sadeghi - S. J. Tabatabai- H. Bayat   |     |
| <b>Effects of Drought Stress on some Morphological and Physiological Properties of Three Grapevine Cultivars (<i>Vitis vinifera L.</i>)</b>   | 326 |
| M. Aran - B. Abedi- A. Tehranifar- M. Parsa   |     |
| <b>The Effect of Lignosulfonate on Rooting of Micropropagated Walnut</b>  | 337 |
| M. Aflaki Jalali - A. Hatamzadeh- H. Bahrami Sirmandi   |     |
| <b>Survey the Effects of Partial Root Zone Deficit Irrigation and Deficit Irrigation on Quantitative, Qualitative and Water Use Efficiency of Pomegranate</b>                                   | 353 |
| M. S. Tadayon - G. Moafpourian  |     |
| <b>Optimization of Indirect Regeneration in <i>Anthurium scherzerianum</i></b>  | 364 |
| A. Noroozi - A. Bagheri- N. Moshtaghi- A. Sharifi   |     |
| <b>Effect Of Water Stress on Trend Changes of Leaf Proline, Total Soluble Sugars, Relative Water Content and Soluble Protein of Two Species of Pot Marigold</b>                                 | 375 |
| S. M. Mousavi - M. Chehrazi- S. Khaleghi  |     |
| <b>Effect of different Genotypes, Cytokinins and Auxins on <i>In vitro</i> Capitulum Regeneration of Gerbera (<i>Gerbera jamesonii</i>)</b>   | 388 |
| A. Sharifi - M. Kharrazi- F. Keykha- A. R. Bagheri- E. Samari- Maryam Moradian  |     |
| <b>Evolution of Morphological and Physiological Response of <i>Agropyron</i> spp. to Drought Stress</b>   | 400 |
| M. Yaghoobi –M. Parsa - A. Gazanchian- H.R. khzaee  |     |
| <b>Investigation on Possibility of Transferring Oyster Mushroom (<i>Pleurotus ostreatus</i>) Manganese Peroxidase Gene (<i>mnp</i>) to the White Button Mushroom (<i>Agaricus bisporus</i>)</b> | 411 |
| M. Parvandi - M. Farsi- M. Ashrafi  |     |
| <b>Study of Bud Differentiation in Hayward and Tomuri Cultivars of Kiwifruit</b>  | 424 |
| E. Abedi Gheshlaghi- V. Rabiei- M. Ghasemi- J. Fattahi Moghaddam- F. Razavi   |     |

# HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

**Vol. 31                      No. 1    Spring 2017**

**Published by:** College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**Editor in charge:** Valizadeh,R.(Ruminant Nutrition)                      Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

**General Chief Editor:** Davarynejad, GH. (Horticultural Sciences) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

## **Editorial Board:**

|                  |                              |   |
|------------------|------------------------------|---|
| TehraniFar,A.    | Horticultural Sciences       | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.   |
| Davarynejad, GH. | Horticultural Sciences       | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.   |
| Talaie, A.       | Pomologist                   | Prof. Tehran University.                |
| Azizi, M.        | Medicinal Plants             | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.   |
| Ebadi,A.         | Horticultural Sciences       | Prof .Tehran University.                |
| Farsi, M.        | Plant Breeding and Genetics  | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.   |
| Kafi, M.         | Floriculture and landscaping | Prof .Tehran University.                |
| Lahouti, M.      | Biology                      | Prof. Ferdowsi University of Mashhad.   |
| Mobli,M.         | Horticultural Sciences       | Prof. Isfahan University of Technology. |

**Publisher:** Ferdowsi University of Mashhad.

**Printed by:** Ferdowsi University of Mashhad, press.

**Address:** College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**P.O.BOX:** 91775- 1163

**Tel:** +98-0511- 8795620

**Fax:** +98-0511- 8787430

**E-Mail:** Jhorts4@um.ac.ir

**Web Site:** <http://jm.um.ac.ir>