



عنوان مقالات

- تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک و سویرجاذب بر برخی از ویژگی‌های رشدی گیاه و میوه توت فرنگی (رقم سلوا) ۴۹۵
داود اکبری نودهی - محمد زنگویی - فضل شیردل شهیمیری
- اثر محلول پاشی کلسیم و نانوکلسیم در کاهش اثرات تنش شوری گوجه‌فرنگی در مرحله رشد رویشی به روش آبکشت ۵۰۷
مریم حقیقی - بهاره نقوی
- تأثیر تنش آبی بر صفات فیزیومورفولوژیک و محتوای پرولین سه رقم گل اطلسی ۵۱۹
مریم کمالی - محمود شور - سید حسین نعمتی - امیر لکریان - حمیدرضا خزاعی
- بهبود کیفیت و تسریع رسیدن میوه خرما رقم کبکاب با استفاده از پوشش‌های رنگی و موقعیت خوشه ۵۳۱
اله کرم رستمی - مجید راحمی - محمود ایزدی
- ارزیابی تغییرات خرد اقلیمی محیط در دو گونه درختی اقلیم معمولی و کاج در فضای سبز شهر مشهد ۵۴۳
زهرا کریمیان - علی تهرانی‌فر - محمد بنایان - مجید عزیزی - فاطمه کاظمی
- ارزیابی تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری برخی خصوصیات میوه ژنوتیپ‌های انار ۵۵۵
پهروز مرادی عاشور - محمد ربیعی - بهروز شیران - سعداله هوشمند
- مدیریت رشد و گل‌دهی شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum*) در فضای رشد محدود باغ شیشه‌ای (تراپوم) ... ۵۶۷
عزیزاله خندان میرکوهی - سیده راضیه واعظ موسوی - احمد خلیقی - روح انگیز نادری
- اثر کم‌آبیاری بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی انگور عسگری (*Vitis vinifera* cv. Asgari) همزیست با قارچ‌ریشه آربسکولار ۵۸۱
مسعود فتاحی - عبدالرحمان محمدخانی
- بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برتر گردو بر اساس صفات مورفولوژیکی میوه و نشانه‌های ISSR در منطقه شاهرود ۵۹۳
فاطمه داوودی - مهدی رضائی - پرویز حیدری - حسین حکم آبادی
- بررسی اثر آبیاری تنظیم شده بر ویژگی‌های رویشی، عملکرد و محتوای روغن و کارآیی مصرف آب درختان زیتون رقم زرد ۶۰۵
رحمت اله غلامی - عیسی ارجی
- مقایسه عملکرد اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با یک پپتید نوترکیب در کنترل عوامل مهم بیماری‌زای قارچ خوراکی تک‌های سفید ۶۱۵
فرح الله شهریار - عباس تهناتیان - مهدی اخلاقی - نرگس نظیفی
- تأثیر تنش مکانیکی بر برخی از خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حسن‌یوسف (*Coleus blumei* Benth.) .. ۶۲۹
عاطفه صفایی‌فر - عبدالحسین رضایی نژاد - صادق موسوی فرد - فیض الله شهپازی
- دستیابی به فیتواستروئید فروتینین موجود در ریشه گیاه کما (*Ferula ovina*) در شرایط درون شیشه‌ای با تأکید بر حفظ ذخایر ژرم پلاسما ۶۴۱
هدی زارع میرک آباد - محمد فارسی - سعید ملک زاده شفاوردی - مهرداد ایرانشاهی - عبدالرضا باقری - نسرین مشتاقی
- پرآوری درون شیشه‌ای، ریشه‌زایی و افزایش سازگاری گیاهچه‌های گلابی نطنزی (*Pyrus communis* cv. Natanzi) به کمک قارچ مایکوریزا ۶۵۵
عظیمه حاجی صادقان نجف‌آبادی - ایمان روح الهی
- تأثیر پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره‌سبز و کلوروکلسیم بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی گیلاس رقم سیاه‌مشهد ۶۶۵
محمد رضا اصغری - زهرا آذرشریف - حسین تاجیک - علیرضا فرخزاد نانساه

Contents

- Effect of Different Levels of Soil Moisture and Superabsorbent Polymer on Some Quantitative Traits of Strawberry cv. Selva 506
D. Akbari Nodehi- M. Zangoei- F. Shirdel Shahmiri
- Effect of Ca and Nano-Ca Spray on Reducing the Effects of Salinity Stress on Tomato at Vegetative Growth Stage in Hydro culture 517
M. Haghighi- B. Naghavi
- Effect of Drought Stress on Physio-morphological Characteristics and Proline Content of Three Varieties of Petunia 529
M. Kamali- M. Shoor- S.H. Neamati- A. Lakzian- H.R. Khazaei
- Quality Improvement and Fruit Ripening Acceleration in Date Palm cv. Kabkab Using Colored Covers and Bunch Positioning 540
A. Rostaami- M. Rahemi- M. Eizadi
- Environmental Microclimatic Evaluation under Two Tree Species of Urban Landscape in Mashhad 552
Z. Karimian- A. Tehranifar- M. Bannayan- M. Azizi- F. Kazemi
- Evaluation of Genetic Variation and Heritability of Some Fruit Traits in Pomegranate Genotypes . 555
B. Moradi Ashour- M. Rabiei- B. Shiran- S. Hooshmand
- Managing Growth and Flowering of Geranium under Limited Growth Environment 579
A. Khandan-Mirkohi- S.R. Waez Mousavi- A. Khalighi- R. Naderi
- Effects of Deficit Irrigation on Some Morphological Characteristics of Grape (*Vitis vinifera* cv. Asgari) Symbiosis with Arbuscular Mycorrhizal 591
M. Fattahi - A. Mohammadkhani
- Genetic Diversity of Superior Walnut Genotypes Revealed by ISSR Markers in Shahrood, Iran 603
F. Davoodi- M. Rezaei- P. Heidari- H. Hokmabadi
- Regulated Deficit Irrigation Regime Effects on Vegetative, Oil Yield and Oil Content and Water Use Efficiency of Zard Cultivar 614
R. Gholami- I. Arji
- Comparison of Antimicrobial Activity of Essential Oils and Plant Extracts with Recombinant Peptide in Controlling of Some Pathogens of Cultivated White Button Mushrooms 627
F. Shariari- A. Tanhaeian- M. Akhlaghi- N. Nazifi
- The Effect of Mechanical Stress on Some Morpho-Physiological and Biochemical Characteristics of *Coleus blumei* Benth 639
A. Safaei Far- A. Rezaei Nejad- S. Mousavi-Fard - F. Shahbazi
- In Vitro Achievement of Ferutinin from Root of *Ferula ovina* with Emphasis in Germplasm Resources Conservation 653
H. Zare Mirakabad- M. Farsi- S. Malekzadeh Shafaroudi- M. Iranshahi- A. Bagheri- N. Moshtaghi
- In vitro Proliferation, Rooting and Acclimatization of Natanzi Pear Seedlings (*Pyrus communis* cv. Natanzi) with Mycorrhiza Fungi Infection 664
A. Hajisadeghian Najafabadi- I. Rohollahi
- Effect of Galbanum Gum Coating Combined with Cumin Essential Oil and Calcium Chloride on Qualitative and Biochemical Characteristics of Sweet Cherry 679
M.R. Asghari- Z. Azarsharif- H. Tajik- A.R. Farrokhzad Nansa

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

26524

21/2015

با شماره پروانه _____ و درجه علمی - پژوهشی شماره _____
از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری _____
73/10/19 68/4/11

زمستان 1397

شماره 4

جلد 32

صاحب امتیاز: دانشگاه فردوسی مشهد
مدیر مسئول: رضا ولی زاده
سر دبیر: علی تهرانی فر

استاد - تغذیه نشخوارکنندگان (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه فردوسی مشهد)

اعضای هیئت تحریریه:

استاد - علوم باغبانی (دانشگاه فردوسی مشهد)
پژوهشگر - موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - میوه کاری (دانشگاه تهران)
استاد - گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
استاد - گروه علوم باغبانی دانشگاه آیداهوی آمریکا
استاد - ژنتیک و اصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - گلکاری و مهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)
استاد - فیزیولوژی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)

تهرانی فر، علی
خانی زاده، شاهرخ
داوری نژاد، غلامحسین
طلایی، علیرضا
عزیزی، مجید
عبادی، علی
فلاحی، اسماعیل
فارسی، محمد
کافی، محسن
لاهوئی، مهرداد
مبلی، مصطفی

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 نمابر: 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 صورت فصلنامه (4 شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.



مندرجات

- تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک و سوپر جاذب بر برخی از ویژگی‌های رشدی گیاه و میوه توت فرنگی (رقم سلوا) ۴۹۵
داود اکبری نودهی - محمد زنگویی - فضل شیردل شهمیری
- اثر محلول پاشی کلسیم و نانو کلسیم در کاهش اثرات تنش شوری گوجه‌فرنگی در مرحله رشد رویشی به روش آبکشت ۵۰۷
مریم حقیقی - بهاره نقوی
- تأثیر تنش آبی بر صفات فیزیومورفولوژیک و محتوای پرولین سه رقم گل اطلسی ۵۱۹
مریم کمالی - محمود شور - سید حسین نعمتی - امیر لکزیان - حمیدرضا خزاعی
- بهبود کیفیت و تسریع رسیدن میوه خرما رقم کبکاب با استفاده از پوشش‌های رنگی و موقعیت خوشه ۵۳۱
اله کرم رستمی - مجید راحمی - محمود ایزدی
- ارزیابی تغییرات خرداقلیمی محیط در دو گونه درختی اقلای معمولی و کاج در فضای سبز شهر مشهد ۵۴۳
زهره کریمیان - علی تهرانی‌فر - محمد بنایان - مجید عزیزی - فاطمه کاظمی
- ارزیابی تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری برخی خصوصیات میوه ژنوتیپ‌های انار ۵۵۵
بهروز مرادی عاشور - محمد ربیعی - بهروز شیران - سعداله هوشمند
- مدیریت رشد و گل‌دهی شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum*) در فضای رشد محدود باغ شیشه‌ای (تواریوم) ... ۵۶۷
عزیزاله خندان میرکوهی - سیده راضیه واعظ موسوی - احمد خلیقی - روح انگیز نادری
- اثر کم‌آبیاری بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی انگور عسگری (*Vitis vinifera* cv. Asgari) همزیست با قارچ‌ریشه ۵۸۱
مسعود فتاحی - عبدالرحمان محمدخانی
- بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برتر گردو بر اساس صفات مورفولوژیکی میوه و نشانه‌های ISSR در منطقه شاهرود ۵۹۳
فاطمه داوودی - مهدی رضائی - پرویز حیدری - حسین حکم آبادی
- بررسی اثر آبیاری تنظیم شده بر ویژگی‌های رویشی، عملکرد و محتوای روغن و کارآیی مصرف آب درختان زیتون رقم ۶۰۵
زرد
رحمت اله غلامی - عیسی ارجی
- مقایسه عملکرد اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با یک پپتید نوترکیب در کنترل عوامل مهم بیماری‌زای قارچ خوراکی ۶۱۵
تکمه‌ای سفید
فرج الله شهریاری - عباس تنهائیان - مهدی اخلاقی - نرگس نظیفی
- تأثیر تنش مکانیکی بر برخی از خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حسن یوسف (*Coleus blumei* Benth.) .. ۶۲۹
عاطفه صفایی فر - عبدالحسین رضایی نژاد - صادق موسوی فرد - فیض الله شهبازی
- دستیابی به فیتواستروژن فروتینین موجود در ریشه گیاه کما (*Ferula ovina*) در شرایط درون شیشه‌ای با تأکید بر حفظ ۶۴۱
ذخایر ژرم پلاسما
هدی زارع میرک آباد - محمد فارسی - سعید ملک زاده شفارودی - مهرداد ایران‌شاهی - عبدالرضا باقری - نسرين مشتاقی
- پرآوری درون شیشه‌ای، ریشه‌زایی و افزایش سازگاری گیاهچه‌های گلایی نطنزی (*Pyrus communis* cv. Natanzi) به ۶۵۵
کمک قارچ مایکوریزا
عظیمه حاجی صادقان نجف آبادی - ایمان روح الهی
- تأثیر پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی گیلاس رقم سیاه‌مشهد ۶۶۵
محمدرضا اصغری - زهرا آذرشریف - حسین تاجیک - علیرضا فرخزاد نانساء



تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک و سوپرجاذب بر برخی از ویژگی‌های رشدی گیاه و میوه توت فرنگی (رقم سلوا)

داود اکبری نودهی^{۱*} - محمد زنگویی^۲ - فضل شیردل شهیری^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

چکیده

کم کردن تلفات آب و دفعات آبیاری یکی از راه کارهای اساسی در توسعه کشاورزی و به حداقل رساندن تنش‌های وارده به گیاهان محسوب می‌گردد، در این راستا یکی از این روش‌ها استفاده از سوپرجاذب است. به منظور ارزیابی سطوح مختلف سوپرجاذب بر رشد و نمو گیاه توت فرنگی در شرایط تنش خشکی، پژوهشی در سال ۱۳۸۹ در استان مازندران در خاکی با بافت لومی انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای تنش خشکی شامل ۳۰، ۵۰ و ۷۰ درصد تخلیه رطوبت در دسترس خاک و پنج سطح سوپرجاذب، صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و یک درصد وزنی و در شرایط گلدانی بودند. نتایج نشان داد که استفاده از سوپرجاذب بر تمام شاخص‌های رشدی شامل روندک، برگ، ریشه و بوته و شاخص‌های زایشی در شرایط تنش خشکی معنی‌دار بود. در تمام شاخص‌های رویشی به جز طول ریشه و طول روندک و تمام شاخص‌های زایشی بیشترین میانگین‌ها مربوط به تیمار یک درصد سوپرجاذب با ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود، که به عنوان بهترین تیمار آزمایشی انتخاب می‌گردد. افزایش میزان مصرف سوپرجاذب باعث افزایش معنی‌دار وزن میوه‌ها گردید به طوری که با مصرف ۰/۲۵ درصد وزنی سوپرجاذب عملکرد نسبت به تیمار شاهد (صفر درصد وزنی) تا چهار برابر افزایش داشته است.

واژه‌های کلیدی: بیشینه تخلیه رطوبت، رشد رویشی و زایشی، عملکرد

مقدمه

آبیاری به لایه‌های زیرین خاک که دور از دسترس ریشه گیاه است، از سویی دیگر به مشکل کمبود آب دامن زده و ارایه راه کارهای مناسب جهت افزایش قدرت نگهداری آب در خاک را اجتناب ناپذیر ساخته است. کودهای آلی و پلیمرهای سوپرجاذب از جمله مواد مناسب برای افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک هستند (۱). کیخانی (۱۴) اثر پلیمر سوپرجاذب را بر روی میزان آب مصرفی و برخی خصوصیات کمی و کیفی گیاه کتان روغنی در اقلیم نیمه خشک معتدل بررسی نمود. نتایج این تحقیق نشان داد، افزایش میزان مصرف پلیمر بر روی افزایش ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، تعداد گل در بوته و درصد ماده خشک در دوره رشد گیاه اثر معنی‌داری داشته و کاهش مقدار آبیاری بر اجزای فوق معنی‌دار بود. وانگ و گرگ (۳۴) در پژوهشی اثر هیدروژل و چند نوع محیط کشت مختلف را روی رشد و پرمردگی سه گیاه کروتون، سمبرگ و ختمی چینی مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که هیدروژل اثر مفیدی روی رشد گیاهان نداشته اما زمان لازم جهت شروع پرمردگی در کروتون را سه روز افزایش داد. تلایلی و اسدزاده (۳۱) در پژوهشی اثر هیدروژل ابرجاذب را در کاهش تنش خشکی درختان میوه زیتون مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد با

توت فرنگی با نام علمی (*Fragaria ananassa*) متعلق به تیره گل سرخیان (Rosaceae) است (۸). توت فرنگی یک از مهم‌ترین میوه‌های ریز است که در جهان به طور گسترده مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. قسمت‌های مختلف گیاه می‌تواند تحت تأثیر کمبود آب قرار گیرد. این قسمت‌ها شامل تولید و رشد و نمو برگ، تولید ساقه رونده، گسترش ریشه، وزن و تعداد میوه‌ها هستند. توت فرنگی جهت تولید محصول کافی به آبیاری مناسب نیاز دارد. این گیاه به دلیل داشتن سیستم ریشه سطحی، سطح برگ زیاد و آبدار بودن میوه به حجم آب بالا نیازمند است (۱۵).

تحت تأثیر قرار گرفتن تولید توت فرنگی در شرایط دیم از یک سو و عدم توانایی خاک در نگهداری و نفوذ آب ناشی از بارندگی و

۱- استادیار گروه آبیاری، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائم‌شهر، ایران
(*) نویسنده مسئول: Email: Dakbarin@yahoo.com

۲ و ۳- دانش‌آموخته ارشد و استادیار گروه زراعت، واحد قائم‌شهر، دانشگاه آزاد

اسلامی، قائم‌شهر، ایران

کاربرد ۰/۳٪ وزنی پلیمر، شاخص‌های رشد در گیاهان مورد تیمار نسبت به تیمار شاهد افزایش چشمگیری داشتند و کمتر در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند. در آزمایشی رشد خیار گلخانه‌ای تحت رژیم‌های مختلف آبی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و مقادیر مختلف پلیمر (۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ درصد بر اساس وزن خشک خاک) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد، کاربرد پلیمر تا ۰/۳ درصد رشد رویشی گیاهان را بهبود داد، اما بین ۰/۳ تا ۰/۴ پلیمر آب‌دوست تفاوتی مشاهده نشد (۳). به منظور بررسی اثرات مواد پلیمری سوپرجاذب در کاهش تنش خشکی، اثر پلیمر سوپرجاذب بر رشد و نمو نهال تامسون تحت شرایط گلخانه‌ای آزمایشی گلدانی اجرا گردید. نتایج حاصل از آزمایش نشان داده است که اثر تیمارهای سوپرجاذب در رشد و نمو گیاه اثر معنی‌دار داشت. بیشترین افزایش رشد گیاه در تیمار ۰/۴٪ تخلیه مجاز و کاربرد ۱٪ ماده سوپرجاذب بود (۱). پژوهشی به منظور ارزیابی تأثیر پلیمر ابرجاذب بر دور آبیاری و رشد و نمو گیاه دودی باغچه‌ای انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از پلیمر روی شاخص‌های تعداد گل، قطر گل، وزن تر و خشک گل، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، نسبت ریشه به شاخ‌ساره و نسبت سطح در شرایط تنش خشکی اثر مثبت و معنی‌داری دارد. در تمام شاخص‌ها به جز نسبت ریشه به شاخ‌ساره بیشترین میانگین‌ها مربوط به تیمار ۰/۸ درصد پلیمر در دور آبیاری دو روز بود. در تیمارهای ۰/۶ درصد تا ۱ درصد پلیمر در دور آبیاری چهار روز میانگین‌ها با تیمار شاهد در دور آبیاری دو روز تفاوت معنی‌داری نداشت (۶). مودیس (۲۰) با اعمال سه تیمار تنش نرمال، متوسط و شدید (بر اساس نسبت حجمی رطوبت در دسترس خاک) در مراحل مختلف رشد به این نتیجه رسید که تنش بر میانگین قطر، طول، وزن و سطح برگ توت فرنگی تأثیر داشته است. حداکثر مقادیر در تیمار با تنش نرمال و تیمار با تنش شدید دارای حداقل مقدار بوده است. سلیا و همکاران (۴) با تأثیر سه سطح تنش (بر اساس سطوح مختلف مکش خاک که با تانسیموتر انجام شد) و همچنین کاربرد مواد اصلاحی به این نتیجه رسیدند که عملکرد، تعداد میوه در گیاه، میانگین وزن میوه‌ها در گیاه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بوده است. تمام فاکتورهای اندازه‌گیری شده در تیمار با حداقل تنش (۰/۰۱ مگا پاسکال) دارای حداکثر و در

تیمار با حداکثر مکش دارای کمترین مقدار بوده است. با توجه به مباحث مطرح شده، مشکلات ناشی از تنش خشکی و تأثیر آن بر کاهش عملکرد محصولات مختلف و ارایه راه کاری مناسب برای تأمین نیاز آبی گیاه دارای اهمیت است. پلیمرهای سوپر جاذب بر میزان نفوذ آب در خاک، وزن مخصوص ظاهری و ساختمان خاک (۲۳) و نیز میزان تبخیر از سطح خاک (۹) تأثیر می‌گذارند. هدف اصلی از افزودن سوپرجاذب به خاک، بالا بردن ظرفیت نگهداری آب در خاک است. کوچک زاده و همکاران (۱۶) با آزمایشی جهت تأثیر مواد جاذب رطوبت بر روی خصوصیات فیزیکی دو نوع خاک لوم شنی و لومی نشان دادند که تأثیر مواد فراجاذب رطوبت روی افزایش تخلخل در خاک‌های لوم شنی بیشتر از خاک‌های لومی است. وودهوس و جانسون (۳۵) اثر مواد فرا جاذب رطوبت روی رشد و دوام کاهو و جو را مورد بررسی قرار دادند. این محصولات در یک لایه شن درشت با شرایط آبیاری محدود رشد یافتند. نتایج نشان داد که فاصله بین ظرفیت زراعی و شروع پژمردگی با افزایش میزان پلیمرهای فراجاذب، افزایش یافت. با توجه به نقش پلیمرها در افزایش نگهداری آب در خاک، این پژوهش با هدف مطالعه تأثیر پلیمر سوپرجاذب و تنش خشکی بر ویژگی‌های رویشی و زایشی توت فرنگی رقم سلوا انجام شد. رقم سلوا از ارقام مهم اکتاپلوئید توت فرنگی است که کشت آن اخیراً مورد توجه زیادی قرار گرفته است. این رقم به علت عدم واکنش به طول روز در مقایسه با ارقام روز کوتاه توانایی تولید گل و میوه را در سراسر سال در شرایط دمایی مناسب دارد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر مواد فراجاذب و تنش خشکی بر خصوصیات گیاه توت فرنگی، آزمایشی در سال ۱۳۸۹ در شهرستان ساری انجام شد. منطقه مورد نظر در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۴ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی (شرقی) ۵۳ درجه و ۳ دقیقه و ارتفاع ۲۳ متر پائین‌تر از سطح دریا آزاد قرار دارد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه بر اساس تجزیه خاک در جدول ۱ نشان داده شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش
Table 1- Physical and chemical properties of tested soil

بافت خاک Texture	هدایت الکتریکی Ec (Ds/m)	pH	ماده آلی OM (%)	فسفر P (p.p.m)	پتاسیم K (p.p.m)
Loom	0.65	7.66	1.15	51.7	220

(۲۱) طول و دو قطر عمود بر هم از کولیس دیجیتالی مدل Helios- Preisser با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. وزن تر میوه با توزین و وزن خشک میوه (گرم) با قرار دادن میوه‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد بدست آمد (۱۷). برای اندازه‌گیری وزن نمونه قبل و بعد از قرار دادن آن در آون از ترازوی دقیق مدل AND سری GF1000 با دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. در پایان مقادیر عددی حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای ذکر شده با کمک نرم‌افزار کامپیوتری MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

بر اساس داده‌های جدول ۲ تأثیر سوپر جاذب و تخلیه مجاز رطوبت به صورت اثرات جداگانه و اثرات متقابل آن‌ها برای تمامی فاکتورهای اندازه‌گیری شده تأثیر معنی‌داری داشته‌اند.

۱- صفات رویشی

۱-۱- تعداد روندک و طول بلندترین روندک: تعداد روندک تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین تعداد روندک مربوط به تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود و با افزایش تنش تعداد روندک کاهش یافت (جدول ۳). میزان پلیمر فراجاذب بر تعداد روندک اثر معنی‌دار داشت و بیشترین تعداد روندک بر اساس داده‌های جدول ۳ مربوط به تیمار یک درصد سوپر جاذب بود. در برهمکنش تنش خشکی و سوپر جاذب بیشترین میانگین تعداد روندک (جدول ۳) مربوط به تیمارهای یک درصد سوپر جاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت می‌باشد و کمترین آن مربوط به تیمار بدون سوپر جاذب و ۷۰ درصد تخلیه رطوبت می‌باشد.

تنش خشکی بر طول بلندترین روندک اثر داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین طول مربوط به تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود (جدول ۳). میزان پلیمر در ترکیب خاک بر طول روندک اثر معنی‌داری داشت. بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین طول روندک مربوط به ۰/۲۵ درصد پلیمر بود. برهمکنش تنش خشکی و سوپر جاذب بر روی طول روندک اثر معنی‌دار داشت و نشان داد بیشترین طول مربوط به تیمارهای ۳۰ درصد تخلیه رطوبت با مصرف ۰/۲۵ درصد سوپر جاذب بود (جدول ۳). با توجه به پژوهش‌های انجام گرفته مشاهده می‌گردد کاربرد پلیمر سوپر جاذب توانسته سبب افزایش شاخص‌های رشد رویشی مانند ارتفاع گیاه و تعداد شاخه‌های فرعی گردد این رفتار به دلیل افزایش میزان

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار سوپر جاذب رطوبت (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد وزنی) و سه دور آبیاری (۳۰ درصد، ۵۰ درصد و ۷۰ درصد تخلیه مجاز رطوبت) با سه تکرار و در شرایط طبیعی رشد و نمو (فقط از ریزش باران در تیمارها جلوگیری شد) اجرا گردید. در این آزمایش از بوته توت‌فرنگی رقم سلوا (Selva) استفاده گردیده است. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر بوده‌اند. جهت آماده کردن بستر کشت ابتدا در کف گلدان‌ها به مقدار مساوی شن (جهت انجام زهکشی) ریخته شد و سپس گلدان‌ها با خاک لومی (جدول ۱) غالب در مزارع کشت توت‌فرنگی در منطقه (به همراه مواد سوپر جاذب) پر گردیدند. جهت افزودن سوپر جاذب به خاک ابتدا مقدار خاک مورد نیاز هر یک از تیمارها وزن و مقدار سوپر جاذب به میزان ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم به گلدان‌ها اضافه گردید. سپس خاک به دقت مخلوط گشته و در داخل هر یک از گلدان‌ها مخلوط مورد نظر ریخته و بوته‌های توت‌فرنگی کاشته شد. اندازه‌گیری مقدار رطوبت و تعیین زمان آبیاری به روش وزنی انجام گردید (۱). قرائت رطوبت به صورت یک روز در میان برای همه گلدان‌های موجود در یک تکرار صورت گرفت. در هنگام اضافه کردن آب به هر یک از تیمارها به ازای میزان وزن کاهش یافته، آب به نمونه‌ها اضافه شد. سوپر جاذب مورد استفاده در این پژوهش با نام تجاری A200 تولید شرکت رهاب رزین (تحت لیسانس پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران) بود. پارامترهای اندازه‌گیری شده (در تمام تیمارها و در زمان شروع برداشت) شامل تعداد روندک، طول روندک، تعداد جوانه، تعداد برگ و سطح برگ (میلی‌متر مربع) که سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل ۱۳۰۸، SAR9، USA اندازه‌گیری شد. اندازه ریشه (سانتی‌متر) بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط علیزاده (۲)، وزن تر و خشک ریشه (گرم) از روش توزین با ترازوی دیجیتالی دارای دقت ۰/۰۰۱ گرم استفاده شد. برای این منظور ریشه‌ها درون پاکت قرار گرفتند و وزن ریشه‌های تر با توزین توسط ترازو به دست آمد. در گام بعدی پاکت‌ها با قرار گرفتن در درون آون (مدل Kavooosh Mega) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و وزن ریشه‌های خشک توزین شد. از دیگر فاکتورهای اندازه‌گیری شده اندازه بوته (سانتی‌متر)، عملکرد کل بوته (گرم)، وزن تر و خشک بوته (گرم) تعداد و قطر میوه بود. برای وزن بوته‌ها، ابتدا بوته‌ها از روی خاک بریده درون پاکت قرار گرفتند و وزن بوته‌های تر به دست آمد سپس با قرار دادن نمونه‌ها در داخل آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت وزن خشک بوته‌ها به دست آمد. برای اندازه‌گیری قطر میوه (میلی‌متر) از رابطه $D_m = (LD^2)^{0.333}$ استفاده شد که در آن L، طول میوه و D، متوسط دو قطر عمود بر هم میوه می‌باشد

نگهداری رطوبت و شرایط مناسب رشد می‌باشد. نتایج مشابه‌ای در مورد بوته انگور گزارش گردیده است (۲۸).

۱-۲- تعداد برگ: بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین تعداد برگ مربوط به تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت خاک بود و با افزایش تنش تعداد برگ کاهش یافت (جدول ۳). میزان پلیمر بر تعداد برگ اثر معنی‌دار داشت و بیشترین تعداد برگ بر اساس داده‌های جدول ۳ مربوط به تیمار یک درصد پلیمر سوپرچاذب بود. در برهمکنش تنش خشکی و میزان سوپرچاذب بیشترین میانگین تعداد برگ مربوط به تیمارهای ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و یک درصد سوپرچاذب بود (جدول ۳).

هانکوک و همکاران (۸) کاهش تعداد برگ‌های توت‌فرنگی (رقم شیلنسپس و ویرجینیا) به واسطه تنش خشکی را گزارش نمودند. همچنین گزارش شد که تنش باعث کاهش تعداد برگ گیاه داودی شده و کاربرد سوپرچاذب تعداد برگ‌های گیاه داودی را افزایش داد. افزایش تنش خشکی باعث خشک شدن برگ‌ها و در نهایت ریزش آن‌ها می‌شود. وجود سوپرچاذب به واسطه آن که محیط مناسبی برای رشد گیاه فراهم می‌کند، باعث کاهش خسارات خشکی و جلوگیری از ریزش و خشک شدن برگ‌ها می‌شود (۶).

۱-۳- سطح برگ: تنش خشکی بر سطح برگ توت‌فرنگی اثر داشت. بیشترین سطح برگ مربوط به تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و کمترین آن مربوط به تیمار ۷۰ درصد تخلیه رطوبت بود (جدول ۳). به نظر می‌رسد با افزایش شدت تنش خشکی، ممانعت از رشد سلولی منجر به کاهش توسعه برگ‌ها می‌شود. سطح برگ کمتر موجب جذب آب کمتری از خاک و کاهش تعرق می‌شود. در واقع، محدودیت سطح برگ می‌تواند اولین خط دفاعی برای مقابله با خشکی باشد (۳۰). کاربرد سوپرچاذب در خاک نیز بر سطح برگ اثر معنی‌دار داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تمام سطوح کاربرد با شاهد تفاوت معنی‌دار داشت و بیشترین سطح برگ مربوط به سوپرچاذب یک درصد بود. مقایسه میانگین‌های مربوط به برهمکنش تنش خشکی و میزان پلیمر نشان داد که بیشترین سطح برگ مربوط به تیمار یک درصد سوپرچاذب و تنش خشکی ۳۰ درصد بود (جدول ۳). افزایش سطح برگ به واسطه کاهش تنش خشکی در گیاه داودی گزارش گردید (۶). کاربرد سوپرچاذب و اثر متقابل دور آبیاری و سوپرچاذب نیز باعث افزایش سطح برگ گردید. افزایش سطح برگ تحت تأثیر کاربرد پلیمر سوپرچاذب به واسطه تنش، ممکن است در نتیجه تداوم پتانسیل فشاری لازم برای رشد برگ‌ها و تقلیل اثر تنش خشکی در گیاه باشد (۱۹).

۱-۴- طول ریشه: متوسط طول ریشه تحت تأثیر تنش خشکی

قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین طول ریشه در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت وجود آمد و با افزایش تنش از طول ریشه کاسته شد. طول ریشه تحت تأثیر سوپرچاذب نیز قرار گرفت. تیمار ۱ درصد سوپرچاذب دارای بیشترین طول ریشه بود. برهمکنش تنش خشکی و سوپرچاذب بر طول ریشه اثر معنی‌دار داشت. بیشترین طول ریشه در تیمارهای ۱ درصد سوپرچاذب و ۵۰ درصد تخلیه رطوبت حادث شد. حداقل آن در تیمارهای ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و بدون سوپرچاذب بدست آمد. یکی از مهم‌ترین برتری‌های کاربرد هیدروژل، جلوگیری از نفوذ عمقی آب محیط ریشه و شستشوی املاح است. با افزایش تنش خشکی، میزان نفوذ ریشه و عمق توسعه آن کاهش می‌یابد. شیخ مرادی و همکاران (۲۸) با بررسی اثر آبیاری و پلیمر سوپرچاذب بر روی خصوصیات کیفی چمن اسپورت به این نتیجه رسید که با افزایش دور آبیاری از ۲ و ۴ روز به ۶ روز عمق توسعه ریشه کاهش می‌یابد. نتایج بررسی دیگر محققان نیز نشان دهنده تأثیر پلیمر بر انبوهی و رشد ریشه چمن اسپورت در مقایسه با شاهد می‌باشد (۲۴).

۱-۵- وزن تر ریشه: وزن تر ریشه تحت تأثیر تنش قرار گرفت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که سطوح مختلف تنش در مورد این ویژگی تفاوت معنی‌داری دارند و بیشترین وزن تر ریشه مربوط به تنش خشکی ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود. میزان سوپرچاذب بر وزن تر ریشه اثر معنی‌دار داشت و بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین وزن تر مربوط به تیمار ۱ درصد سوپرچاذب بود. نتایج نشان داد که تیمار ۱ درصد سوپرچاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بیشترین میانگین را دارا بود و کمترین آن مربوط به تیمارهای صفر درصد سوپرچاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود (جدول ۳). پلیمرها با بهبود شرایط فیزیکی خاک باعث افزایش تراکم ریشه، افزایش ریشه‌های فرعی و وزن ریشه می‌شوند که در این صورت دسترسی ریشه به آب قابل استفاده بیش‌تر شده و گیاه کم‌تر تحت تأثیر شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرد (۲۲). در گیاهانی از جمله *Populus euphratica* (۲۷)، گندم (۱۳)، گیاه دارویی کتان روغنی (۱۴) افزایش وزن تر و خشک ریشه به واسطه افزایش مواد سوپرچاذب گزارش گردید. نتایج نشان می‌دهد وجود آب در دسترس در محیط اطراف ریشه در بسترهای حاوی سوپرچاذب، سبب بهبود رشد ریشه *Populus euphratica*، گندم و کتان روغنی شده است. تهرانی فر و همکاران (۳۳) نیز با پژوهش بر روی گونه‌های بومی چمن گزارش کردند که تحت شرایط نقصان رطوبت خاک، وزن خشک ریشه کاهش می‌یابد. در همین رابطه هانگ و فو (۱۱) اعلام کردند با اعمال تیمار خشکی به شدت از وزن ریشه گراس‌ها کاسته می‌شود.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برخی از صفات رویشی اندازه‌گیری شده توت فرنگی رقم سلوا تحت تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک و سوپر جاذب
Table 2- Analysis of variance for the measurement vegetative traits of strawberry cv. Selva under different levels of soil moisture and superabsorbent polymer

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		تعداد روندها Number of stolon	طول بلندترین روندها Length of the longest stolon	تعداد برگ Number of leaf	سطح برگ Leaf area	متوسط طول ریشه Average root length	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
سوپر جاذب Super absorbent	4	9.238**	18773.73**	133.67**	2203710.426**	2439.31**	1025.125**	198.888**
تخلیه مجاز رطوبت MAD	2	63.24**	2838.29**	77.62**	1016308.319**	258.363**	84.074**	14.455**
سوپر جاذب × تخلیه مجاز Super absorbent × MAD	8	2.84**	59.25*	0.481 ^{ns}	40014.587*	17.780**	0.447 ^{ns}	0.457**
خطا Error	28	1.064	32.01	1.72	30583.37	3.17	0.497	0.097
CV%		14.4	3.21	3.94	2.51	4.48	3.79	5.22

* در سطح ۵ درصد معنی‌دار، ** در سطح ۱ درصد معنی‌دار، ns عدم معنی‌دار
** and * means significance at 1% and 5% level of probability, respectively; ns = non- Significance

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سوپر جاذب × رطوبت بر برخی از صفات رویشی اندازه‌گیری شده توت فرنگی رقم سلوا
Table 3- Mean comparison of super absorbent × moisture interaction effects on some of the measured growth vegetative traits of strawberries cv. Selva

سوپر جاذب Super absorbent (%)	تخلیه مجاز رطوبت MAD (%)	تعداد روندها Number of stolon	طول بلندترین روندها Length of the longest stolon (cm)	تعداد برگ Number of leaf	سطح برگ Leaf area (mm ²)	متوسط طول ریشه (Average root length) (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)
0	30	3.000 ^{cde}	33.89 ^j	9.556 ^{ghi}	2148 ^{fghi}	6.556 ^k	3.444 ^o	0.7622 ⁿ
	50	2.270 ^{defg}	25.78 ^k	7.778 ^{jk}	2035 ^{hi}	7.333 ^k	4.667 ⁿ	0.9767 ^{mn}
	70	1.703 ^g	19.44 ^l	6.778 ^k	1993 ⁱ	9.222 ^j	5.667 ⁿ	1.187 ^m
0.25	30	3.518 ^c	100.3 ^a	11.00 ^{def}	2330 ^{def}	9.111 ^j	6.778 ⁱ	1.624 ⁱ
	50	2.889 ^{cdef}	92.00 ^b	9.556 ^{ghi}	2148 ^{fghi}	10.00 ^j	8.222 ^k	2.089 ^k
	70	1.889 ^{efg}	85.89 ^c	8.518 ^{ij}	2075 ^{hi}	12.00 ^j	9.667 ^j	2.626 ^j
0.5	30	4.000 ^{bc}	80.22 ^d	11.22 ^{cde}	2364 ^{de}	14.00 ^h	10.44 ⁱ	2.933 ⁱ
	50	3.111 ^{cd}	73.33 ^{ef}	9.778 ^{fghi}	2161 ^{fghi}	16.00 ^g	12.37 ^h	3.767 ^h
	70	2.078 ^{defg}	68.11 ^f	8.778 ^{hij}	2088 ^{ghi}	16.89 ^{fg}	13.78 ^g	4.494 ^g
0.75	30	4.889 ^b	74.00 ^e	12.22 ^{cd}	2487 ^{cd}	18.33 ^f	15.00 ^f	5.202 ^f
	50	3.111 ^{cd}	59.78 ^g	10.67 ^{efg}	2275 ^{efg}	21.22 ^e	16.22 ^e	5.744 ^e
	70	1.778 ^{fg}	49.22 ^h	10.11 ^{efgh}	2208 ^{efgh}	25.22 ^d	17.67 ^d	6.500 ^d
1	30	6.000 ^a	47.00 ^h	15.67 ^a	3057 ^a	27.33 ^c	21.33 ^a	8.377 ^a
	50	3.667 ^c	40.11 ⁱ	14.00 ^b	2784 ^b	35.89 ^a	20.00 ^b	7.610 ^b
	70	2.111 ^{defg}	33.56 ^j	12.44 ^c	2547 ^c	31.11 ^b	18.78 ^c	7.000 ^c

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشند
Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$) based on Duncan's Multiple range test.

۶-۱- وزن خشک ریشه: تنش خشکی بر وزن خشک ریشه اثر معنی‌دار داشت. بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود. کاربرد پلیمر سوپرجاذب نیز بر وزن خشک ریشه معنی‌دار بود. به‌طوری‌که سوپرجاذب در مقادیر بالا در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری را باعث شد. بر همکنش تنش خشکی و میزان سوپرجاذب بر وزن خشک ریشه اثر معنی‌دار داشت و در مقایسه میانگین‌ها بیشترین وزن خشک ریشه مربوط به تیمار ۱ درصد سوپرجاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود (جدول ۳). طبق بررسی‌های بانج شفیعی و رهبر (۲۶) و جوهانسن و ودهوس (۱۳) مشاهده شده است که سوپرجاذب به‌ترتیب منجر به افزایش وزن خشک ریشه در گیاه *Populus euphratica* و گندم شده‌اند. در تحقیقی گزارش شد که تأثیر هیدروژل و دور آبیاری باعث افزایش طول، وزن تر و خشک ریشه در نهال تاغ گردید (۳۷). پلیمرها با بهبود شرایط فیزیکی خاک باعث رشد بهتر ریشه در جهت جذب بیشتر آب می‌شوند. پلیمرها باعث تراکم ریشه، افزایش ریشه‌های فرعی و در نهایت وزن بیشتر ریشه می‌شوند (۱۲).

۷-۱- طول بوته: تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار طول بوته شد (جدول ۴). به‌طوری‌که بالاترین طول بوته در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و کم‌ترین آن در تیمار ۷۰ درصد تخلیه رطوبت بدست آمد (جدول ۵). این مطلب را می‌توان به کاهش ترگر و اثرات آن بر تقسیم و توسعه سلول نسبت داد، رشد سلول به در دسترس بودن ترکیبات ارگانیک و غیرارگانیک مورد نیاز برای سنتز پروتوپلاسم جدید و دیواره‌های سلول و همچنین فشار ترگر وابسته است، به واسطه‌ی کمبود آب کشیدگی و افزایش طول ساقه به سرعت متوقف می‌شود (۷). افزایش سوپرجاذب نیز در افزایش طول بوته مؤثر بود به‌طوری‌که بیشترین طول بوته با مصرف ۱ درصد سوپرجاذب بدست آمد (جدول ۵). بر همکنش تنش خشکی و میزان پلیمر بر طول بوته نیز معنی‌دار بود. بیش‌ترین طول بوته در ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و ۱ درصد سوپرجاذب بدست آمد (جدول ۵).

با توجه به پژوهش‌های انجام گرفته مشاهده گردید که کاربرد پلیمر سوپرجاذب می‌تواند سبب افزایش شاخص‌های رشد رویشی مانند ارتفاع گیاه گردد. این رفتار به دلیل افزایش میزان نگهداری رطوبت می‌باشد. در پژوهشی که بر روی بررسی تأثیر هیدروژل‌های سوپرجاذب در کاهش خشکی درختان زیتون انجام گرفت، نتایج به دست آمده نشان داد که با کاربرد ۰/۳ درصد وزنی سوپرجاذب شاخص‌های رشدی در نهال‌های تیمار شده نسبت به تیمار شاهد افزایش چشم‌گیری داشتند و کم‌تر در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند (۳۱). در گیاه سویا (۳۶) و گندم (۳۰) به نتایج مشابهی دست یافتند.

۸-۱- عملکرد کل بوته (بیوماس): تیمار تنش خشکی، سوپرجاذب و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد کل بوته نیز معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد بوته در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت، یک درصد سوپرجاذب و در تیمارهای ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و یک درصد سوپرجاذب بدست آمد. کاهش شدید وزن اندام‌های هوایی و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی در نتیجه محدودیت آب توسط محققین دیگر در نخود گزارش شد (۱۰ و ۲۵). در دسترس بودن آب در عملکرد زیست توده و به دنبال آن عملکرد دانه نخود دیم تأثیر به‌سزایی دارد زیرا که عملکرد زیست توده در برگیرنده هر دو جنبه رشد رویشی و زایشی گیاه می‌باشد (۲۹). کمبود آب مانع از آن می‌شود که وزن زیستی گیاه به حداکثر خود برسد که این کاهش می‌تواند به دلیل اثر تنش آبی بر فتوسنتز باشد. وزن زیستی گیاه بیان گر این است که گیاه چه مقدار فتوسنتز حقیقی خود را قادر است به‌صورت فتوسنتز خالص درآورد. افزایش مقاومت مزوفیلی و روزنه‌ای در شرایط تنش آبی باعث کاهش ورود دی‌اکسید کربن به درون گیاه گردیده و تحت تأثیر این حالت فتوسنتز ظاهری گیاه کاهش می‌یابد، بنابراین وزن زیستی گیاه در اثر تنش آبی کاهش می‌یابد (۱۸). بنابراین، با توجه به اثر پلیمرها بر میزان رطوبت قابل استفاده خاک، کاربرد آن به‌طور غیرمستقیم بر ترقق گیاه اثر می‌گذارد و در نتیجه وزن خشک آن را افزایش می‌دهد. آزمایش‌ها ترمن و همکاران (۱۲) در استفاده از پلیمرهای سوپرجاذب بر روی افرا و لوبیا قرمز، افزایش معنی‌دار وزن خشک این گیاهان به دلیل افزایش ترقق و جذب دی‌اکسید کربن را نشان داد. محققین دیگر نیز گزارش کردند که کاربرد پلیمرهای سوپرجاذب موجب افزایش عملکرد ماده خشک گیاه گندم می‌شود (۵ و ۳۰).

۹-۱- وزن تر و خشک بوته (بدون وزن ریشه و روندک): تیمار تنش خشکی، سوپرجاذب و اثر متقابل آن‌ها بر وزن تر و خشک بوته معنی‌دار بود. بیشترین وزن تر و خشک در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت، ۱ درصد سوپرجاذب و تیمارهای ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و ۱ درصد سوپرجاذب بدست آمد (جدول ۵). پژوهش‌ها نشان می‌دهد که به حداکثر رساندن پتانسیل تولید محصول از برتری‌های اصلی سوپرجاذب‌ها محسوب می‌شود. کاربرد پلیمر سبب افزایش مواد غذایی قابل دسترس گیاه در خاک شده، بنابراین بیوماس گیاه را افزایش می‌دهد. جوهانسن و ودهوس (۱۳) نیز عنوان کردند که کاربرد سوپرجاذب در کشت گندم باعث افزایش وزن خشک گردید.

۲- صفات زایشی

۱-۲- قطر میوه: تنش خشکی بر قطر میوه اثر داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین قطر میوه در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بود. میزان پلیمر در ترکیب خاکی بر قطر میوه اثر معنی‌داری

بر طبق نظر تیلور و همکاران (۳۲) علت روند افزایشی عملکرد در اثر مصرف پلیمر، رساندن آب و مواد غذایی به گیاه توسط این ماده بوده که در مراحل تنش قادر است کمبود آب را بر طرف کرده و سبب افزایش این صفت شود و با توجه به این که برای تولید عملکرد بالا وجود آب کافی ضروری است، مسلماً این مواد سبب افزایش آب قابل دسترس گیاه می‌شوند که در نهایت سبب افزایش عملکرد می‌شوند.

۲-۳- تعداد میوه در بوته: بررسی اثر تیمار سوپر جاذب نشان داد که در تیمار بدون سوپر جاذب تعداد میوه در بوته به طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای حاوی سوپر جاذب بود و در میان تیمارهای حاوی سوپر جاذب نیز تیمار یک درصد درارای بیشترین تعداد میوه در بوته بود (جدول ۵). اثر تیمار آبیاری نیز بر تعداد میوه معنی‌دار شد (جدول ۴). بررسی اثر متقابل سطوح آبیاری و سوپر جاذب نشان داد که بیشترین تعداد میوه از تیمار یک درصد سوپر جاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت حاصل گردید (جدول ۵). مودیس (۲۰) و سلیا و همکاران (۴) نیز گزارش نمودند افزایش تنش باعث کاهش تعداد میوه در گیاه می‌شود.

داشت. بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین قطر میوه مربوط به ۱ درصد سوپر جاذب و کمترین آن در تیمار شاهد بود (جدول ۵). بر همکنش تنش و سوپر جاذب بر قطر میوه اثر معنی‌داری داشت و نشان داد بیشترین قطر میوه مربوط به تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و کاربرد ۱ درصد پلیمر بود (جدول ۵).

۲-۲- وزن تر و خشک تک میوه: مقدار وزن تر و خشک تک میوه تحت تأثیر تنش خشکی، سوپر جاذب و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت. بیشترین وزن تر و خشک میوه توت فرنگی در تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت حاصل گردید و با افزایش تنش وزن میوه کاهش یافت (به ترتیب ۹/۱۷ و ۱/۰۷ گرم). با اعمال تنش پتانسیل آب در آوندهای چوبی کاهش پیدا کرده و به دنبال آن حرکت آب به درون میوه‌ها دچار اختلال می‌شود و به عبارتی از وزن تر میوه‌ها کاسته می‌شود (۱۷). در تیمار سوپر جاذب بالاترین وزن تر و خشک تک میوه مربوط به کاربرد ۱ درصد سوپر جاذب بود (به ترتیب ۱۶/۰۷ و ۱/۶۹۵ گرم). در مقایسه میانگین‌های مربوط به بر همکنش تنش خشکی و سوپر جاذب بیشترین میانگین را تیمار ۳۰ درصد تخلیه رطوبت و ۱ درصد پلیمر سوپر جاذب نشان داد (جدول ۵). به طوری که میزان وزن تر و خشک به ترتیب به میزان ۱۸/۹۹ و ۱/۹۹ گرم افزایش یافت.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس برخی از صفات زایشی اندازه‌گیری شده توت‌فرنگی رقم سلوا تحت تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک و سوپر جاذب
Table 4- Analysis of variance of the measurement reproductive traits of strawberry cv. Selva under different levels of soil moisture and superabsorbent polymer

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		متوسط طول بوته Average plant length	عملکرد کل بوته Total plant performance	وزن خشک بوته Plant dry weight	تعداد میوه Number of fruits	قطر بزرگترین میوه Diameter of the largest fruit	وزن تر تک میوه Fruit fresh weight	وزن خشک تک میوه Fruit dry weight
سوپر جاذب Super absorbent	4	744.896**	50863.556**	55.109**	1010.463**	6093.141**	940.908**	9.49**
تخلیه مجاز رطوبت MAD	2	58.941**	3886.674**	3.749**	74.141**	310.489**	77.996**	1.295**
سوپر جاذب × تخلیه مجاز Super absorbent × MAD	8	3.107**	298.628**	0.13 ^{ns}	3.419**	1735.813**	8.47*	0.032**
Error خطا	28	0.556	7.37	0.07	0.363	2.296	0.209	0.005
CV%		3.83	3.63	3.43	5.42	8.13	3.25	7.9

* در سطح ۵ درصد معنی‌دار، ** در سطح ۱ درصد معنی‌دار، ns غیر معنی‌دار

**and * means significance at 1% and 5% level of probability, respectively ;ns = non- Significance.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل سوپر جاذب × رطوبت بر برخی از صفات زایشی اندازه‌گیری شده توت فرنگی رقم سلوا

Table 5- Mean comparison of super absorbent ×moisture interaction effects on some of the measured reproductive traits of strawberries cv. Selva

درصد سوپر جاذب Super absorbent percent	درصد تخلیه مجاز رطوبت MAD (%)	متوسط طول بوته Average plant length	عملکرد کل بوته Total plant performance	وزن خشک بوته Plant dry weight	تعداد میوه Number of fruits	قطر بزرگترین میوه Diameter of the largest fruit	وزن تر تک میوه Fruit fresh weight	وزن خشک تک میوه Fruit dry weight
0	30	6.222 ^{lm}	9.222 ⁱ	2.500 ^{ik}	4.333 ⁱ	2.00 ^{kl}	4.17 ⁱ	0.48 ^j
	50	6.000 ^{mn}	6.556 ^m	2.272 ^{kl}	3.111 ^m	1.55 ^{kl}	3.02 ^m	0.24 ⁱ
	70	5.444 ⁿ	4.556 ^m	2.106 ^l	2.444 ⁿ	1.33 ^l	1.99 ⁿ	0.13 ^m
0.25	30	8.667 ^j	19.89 ^j	3.650 ^h	6.778 ^j	4.89 ^j	8.14 ^h	0.53 ^j
	50	7.556 ^k	14.33 ^k	3.050 ⁱ	5.667 ^k	3.11 ^k	7.93 ^h	0.35 ^k
	70	6.778 ^l	10.44 ⁱ	2.728 ^j	4.778 ^l	2.67 ^{kl}	5.13 ^k	0.20 ^l
0.5	30	12.67 ^g	45.56 ^g	4.461 ^t	9.778 ^g	15.11 ^g	11.58 ^e	0.99 ^g
	50	11.111 ^h	36.33 ^h	4.072 ^g	8.444 ^h	11.67 ^h	10.43 ^f	0.87 ^h
	70	9.889 ⁱ	26.33 ⁱ	3.861 ^{gh}	7.556 ⁱ	9.22 ⁱ	9.62 ^g	0.70 ⁱ
0.75	30	15.89 ^d	86.67 ^d	5.386 ^{cd}	15.44 ^d	28.67 ^d	13.98 ^c	1.34 ^d
	50	14.67 ^e	71.44 ^e	5.158 ^d	12.33 ^e	24.56 ^e	12.30 ^d	1.21 ^e
	70	13.78 ^f	56.78 ^f	4.794 ^e	10.89 ^f	20.22 ^f	11.51 ^e	1.11 ^f
1	30	20.67 ^a	126.9 ^a	6.001 ^a	19.67 ^a	40.78 ^a	18.99 ^a	1.99 ^a
	50	19.00 ^b	110.6 ^b	5.826 ^{ab}	19.00 ^b	38.78 ^b	15.72 ^b	1.61 ^b
	70	16.78 ^c	97.22 ^c	5.630 ^{bc}	17.56 ^c	31.78 ^c	13.52 ^c	1.49 ^c

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشندNumbers followed by the same letter are not significantly differentns ($P < 0.05$)

نتیجه‌گیری

با توجه به ارزیابی صورت گرفته بر روی پارامترهای مختلف رشد و میوه توت فرنگی و نتایج بدست آمده می‌توان بیان داشت که بکارگیری سوپر جاذب به میزان یک درصد وزنی با ۳۰ درصد تخلیه رطوبت بیش‌ترین تأثیر را روی پارامترهای ذکر شده گیاه توت فرنگی داشت. بر اساس نتایج بدست آمده مشاهده گردید افزایش میزان مصرف سوپر جاذب جلوی کاهش عملکرد حاصل از تنش را گرفته است. به‌طوری‌که مثلاً اختلاف معنی‌داری بین تیمار یک درصد سوپر جاذب با ۷۰ درصد تخلیه رطوبت و تیمار ۰/۷۵ درصد سوپر جاذب و ۳۰ درصد تخلیه رطوبت مشاهده نگردیده است.

نتایج نشان داد، مقدار آب آبیاری، سوپر جاذب و اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات رویشی و صفات زایشی توت فرنگی داشته است. صفات رویشی شامل شامل تعداد و طول بلندترین روندها، تعداد برگ، سطح برگ، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، طول بوته، بیوماس، وزن تر و خشک بوته و همچنین صفات زایشی شامل قطر میوه، وزن تر و خشک میوه و همچنین تعداد میوه به صورت جداگانه متأثر از تیمارهای مختلف تنش خشکی و سوپر جاذب بوده‌اند. اما در مورد اثر متقابل تیمارها، تعداد برگ و وزن تر ریشه معنی‌دار نبود.

- 1- Akbari D., Mirzaee Gh.R., Shirdel F., and Tashakori A. 2008. Effect of irrigation and absorbent materials on Thomson Growth. P. 18-13. The second national conference on the management of irrigation and drainage networks. 8 to 10 Feb. 2008. Chamran University, Ahvaz, Iran. (In Persian)
- 2- Alizadeh A. 1378. The relationship between water, soil and plants. Imam Reza University Mashhad, Iran.
- 3- Al-Omran A.M., Shalaby A., Wahdan H., and Choudhary M.I. 1996. Growth response of cucumber to hydrophilic polymer application under different soil moisture levels, Vegetative. Crop Production, (2): 57-64.
- 4- Célia de Matos R., Vinícius F.M., Antonio P.F., Flávio B.A., and Emilio S. 2006. Vegetative growth and yield of strawberry under irrigation and soil mulches for different cultivation environments. Science Agriculture, 63(5): 417-425.
- 5- El-Hady O.A., El-Kader A.A., and Shafi A.M. 2009. Physicobio- chemicalplantation properties of sandy soil conditioned with acrylamide hydrogels after Cucumber. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3: 3145-3151.
- 6- Ghasemi A., and Khoskho M. 2007. The effect of irrigation on the growth and development of chrysanthemum plant. Journal of Horticultural Science and Technology, 8(2): 82-65.
- 7- Ghooshchi F., Seilsepour M., and Jafari P. 2008. Effects of water stress on yield and some agronomic traits of maize [SC 301], American-Eurasian Journal Agricultural Environment Science, 4(3): 302-305.
- 8- Hancock J.F., Sjulín T.M., and Lobos G.A. 2008. Temperate fruit crop breeding. Wageningen, the Netherlands, 393-437.
- 9- Helalia A., and Letey J. 1988; Cationic polymer effects on infiltration rates with a rainfall simulator. Soil Science Society of America Journal, 52: 247-250.
- 10- Hosseini N.M., Palta J.A., Berger J.D., and Siddique K.H. 2009. Sowing soil water content effects on chickpea (*Cicer arietinum* L.): Seedling emergence and early growth interaction with genotype and seed size. Agricultural Water Management, 96: 1732-1736.
- 11- Huang B., and Fu J. 2001. Growth and physiological responses of tall fescue to surface soil drying. International Turfgrass Society Research Journal, 9: 291-296.
- 12- Huttermann A., Zommodi M., and Reise K. 1999. Addition of hydrogels to soil for prolonging the survival of Pinus halepensis seedlings subjected to drought. Soil and Tillage Research, 50: 295-304.
- 13- Johnson M.S., and Woodhouse J. 1990. Effect of super absorbent polymers on efficiency of water use by crop seeding. Journal of the Science of Food and Agriculture, 52: 431-434.
- 14- Kaykhani F. 2000. The effect of super absorbent PR3005 on the quantity and quality of water and some properties of cotton. Master's thesis of Tarbiat Modarres University. Tehran, Iran.
- 15- Klamkowski K., and Trede W. 2006. Morphological and physiological responses of strawberry plants to water stress. Agriculturae Conspectus Scientificus, 71: 159-165.
- 16- Kochakzadeh M., Sabbagh A., Farshi A., and Ghanji Khorram A. 2000. The effect on some physical properties of soil water Frajazb polymer. Journal of Soil and Water Sciences, 14(2): 186-176. (In Persian with English abstract)
- 17- Liu F., Savic S., Jensen C.R., Shahnazari A., Jacobsen S.E., Stikic R., and Andersen M.N. 2007. Water relations and yield of lysimeter-grown strawberries under limited irrigation. Scientia Horticulturae, 11: 128-132.
- 18- Majidian M., Ghalavand A., Karimiyan N.A., and Kamkar Hghighi A.R. 2008. The effect of different amounts of nitrogen fertilizer and irrigation on the yield of maize. Electronic Journal of Crop Production, 1(2): 85-67. (In Persian with English abstract)
- 19- Moazzen Ghamsari B., Akbari G.A., Zohoorian M.J., and Nik Niyaei A.B. 2009. Evaluation of corn forage yield and growth indices (*Zea mays* L.) affected by the use of different amounts of superabsorbent polymer under drought stress. Journal of Field Crop Science (Agricultural Sciences Iran), 40(3): 8-1. (In Persian with English abstract)
- 20- Modise D.M. 2013. Growth and expansion of strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.) under water stress conditions. African Journal of Agricultural Research, 8(46): 5703-5711.
- 21- Mohsenin N.N. 1986. Physical Properties of Plant and Animal Materials: Structure, Physical Characteristics, and Mechanical Properties. Gordon & Breach, New York.
- 22- Nejatali S., Farahpor M., and Bahadori F. 2002. Effect of hydrophilic polymer on irrigation in melon. Second Conferences of Superabsorbent hydrogel. Iran Polymer and Petrochemical Institute. Tehran, Iran.
- 23- Nielsen D.C., and Nelson N.O. 1998. Black bean sensitivity to water stress at various stage. Crop Science, 38: 422-427.
- 24- Panayiotis A., Nektarios K., Nikolopoulou A.E., and Chronopulo S.I. 2004. Sod establishment and turf grass growth as affected by urea-formaldehyde resin foam soil amendment. Scientia Horticulturae, 100: 203-213.
- 25- Pawar V.S., Patit P.O., Dahiwalker S.D., and Magar S.S. 1992. Effect of irrigation schedule based on critical growth stages on yield, quality and water use of chickpea (*Cicer arietinum* L.) on Vertis. Indian Journal of

- Agricultural Sciences, 62: 402–404.
- 26-Shafie Banj S.h., and Rahbar A. 2003. Evaluation of a hydrophilic polymer in Agriculture and Natural Resources, (a)-Impact of Polymer on growth and success *Panicom phenomena*. Journal Scientific- Research and Desertification of Pasture, 10: 130-110. (In Persian with English abstract)
- 27-Shafiei S.h. 2002. Effect of superabsorbent polymer to increase soil moisture, fertilizer efficiency, growth and plant establishment Panykvm. Second Course- teaching agricultural and industrial applications superabsorbent. Tehran, Iran. 61-54. (In Persian)
- 28-Sheikh Moradi F., Smaili A., and Bdosi V. 2010. Effect of irrigation and super absorbent polymer on some quality characteristics of sports turf. Journal of Horticultural Science (Agricultural Science and Technology), (2)(25): 170-177. (In Persian with English abstract)
- 29-Shobeiri S.S., Ghasemi Golezani K., Ghilchin A., and Saba C. 2007. Effect of water restriction on the growth and yield of chickpea in Zanjan. Agricultural Sciences and Natural Resources, 4(2): 32-43. (In Persian with English abstract)
- 30-Stern R.A.J., Vandermerwe M., Laker C., and Shainberg I. 1992. Effect of soil surface treatments of runoff and wheat yields under irrigation. Agronomy Journal, 84: 114-119.
- 31-Talaei A., Asadzadeh A. 2005. Effect of superabsorbent on stiffness of olive trees. Third Conference of Agricultural and Industrial Applications of Superabsorbent, 69-58. (In Persian)
- 32-Taylor K.C., and Halfacre R.G. 1986. The effect of hydrophilic polymer on media water retention and nutrient availability to ligustum. Horticultural Science, 21: 1159-1161.
- 33-Tehranifar A., Selahvarzi Y., Gazanchian A., and Arooei H. 2009. Drought resistance mechanisms of native and commercial turfgrasses under drought stress: II. Shoot responses. Journal of Horticultural Science, 23(1): 1-9.
- 34-Wang Y., and Gregg L.L. 1992. Hydrophilic polymers- their response to soil amendments and effect on properties of a soilless potting mix. Journal of the American Society for Horticultural Science, 115: 943-948.
- 35-Woodhouse J., and Johnson M.S. 1991. Effect of superabsorbent polymers on survival and growth of crop seeding. Agriculture Water Management, 20: 63-70.
- 36-Yazdani F., and Alhedadi A. 2005. The effect of superabsorbent in order to reduce drought stress of soybean. Proceedings of the Ninth Congress of Soil Science .Tehran. Iran.
- 37-Zngvei Nasab S.h., Emami H., Starayy A., and Yari R. 2013. The effects of irrigation on some soil properties and growth hydrogel Astokvzorb and Haloxylon seedlings. Journal of Soil management and sustainable production, 3 (1): 182-167. (In Persian with English abstract)



Effect of Different Levels of Soil Moisture and Superabsorbent Polymer on Some Quantitative Traits of Strawberry cv. Selva

D. Akbari Nodehi^{1*} - M. Zangoei² - F. Shirdel Shahmiri³

Received: 28-10-2016

Accepted: 24-10-2018

Introduction: Water is one of the most important factors limiting plant growth and agricultural productivity in many areas of the world. Decreasing water losses and irrigation times are one of the basic countermeasures for agriculture development and minimizing the stress to plants. Correct management and applying improved techniques for saving and conserving the humidity of soil and increasing the soil water holding capacity is among the activities for productivity increasing and consequently exploiting limited water resources. New method in science of soil and water is using super absorbent materials as reservoirs and prevention from water wastage and increase of irrigation efficiency.

Materials and Methods: In order to evaluate the application effects of different levels of superabsorbent polymer on growth of strawberry plants under drought stress condition, a research was conducted in the Mazandaran province in loamy soil during 2010. Experiment was carried out as factorial based on randomized complete block design with three replications and three plants for each replication. Dryness stress treatments (30%, 50% and 70% of Maximum allowable depletion of soil moisture; MAD) and superabsorbent polymer (0, 0.25, 0.5, 0.75 and 1 % of soil weight) were allocated to main and sub-plots, respectively. In this research the superabsorbent polymer TawaratA200 is used that is produced by the research center of petrochemical and polymer of Iran. Before planting, super absorbent polymer was added to the soil of pots in deepness of root development. For stress application, the pots were weighted every day. During the experiment, the physicomorphologic characteristics such as number and length of stolones, number of leaves, plant length, biomass, fresh and dry weight, fruit diameter, number and weight of fruit were estimated.

Results and Discussion: The results showed, superabsorbent and drought stress and their interaction effects effected on all factors. In vegetative characteristics, number and length of stolones in treatment of 1% superabsorbent and 30%of MAD (maximum allowable depletion) has been maximum. By increasing stress, number and length of stolones declined. The lowest amount was obtained in the treatment of non-superabsorbent and 70% of MAD. With increasing stress, the number of leaves decreased and with increased superabsorbent, leaf number was increased. Strawberry leaves in treatment of one percent superabsorbent and 30%of MAD has a maximum value and in treatment of non-absorbent and 70% of MAD was minimal. Root length, fresh and dry weight were affected by the water stress. 70% of MAD and 30% of MAD has been the minimum and maximum amount, respectively. The plant length, biomass, fresh and dry weight, by reducing stress and increasing superabsorbent has increased and maximum values were obtained in the treatment of 30%of MAD and one percent of superabsorbent. In reproductive characteristics, fruit diameter reduction, occurred with increase stress. Fruit diameter was increased by adding superabsorbent and reducing stress. In the treatment of 1% superabsorbent and 30%MAD the maximum diameter of the fruit was obtained. Increased water stress has been causes weight reduction. In treatment 30%of MAD, the weight of fruit was obtained 4.17 g, with the increase of water stress, the fruit weight was reduced to 1.99 g. The use of superabsorbent increases the yield. With an increase of 0.25%superabsorbent, fruit weight was increased from 4.17 to 8.14 g. In the interaction of stress and superabsorbent, the maximum weight of the fruit with 18.99 g was obtained in treatment of 1% superabsorbent and 30% MAD. the maximum number of fruits was obtained, in treatment with 1% superabsorbent and 30% MAD with the number of 19.67.

1- Associate Professor, Department of Irrigation, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran
(* - Corresponding Author Email: Dakbarin@yahoo.com)

2 and 3- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Agronomy, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran

Conclusion: Super absorbent polymer plays an important role in enhancement of absorption capacity and retention of water in soil, fighting against water shortage and decreasing harmful effects of drought stress. The above mentioned rates of polymer have the best effect to all characteristics of strawberry in all levels of water stress treatment. The findings strongly suggest that the irrigation period of strawberry cultivation can be increased by application of polymer.

Keywords: Maximum allowable depletion of moisture, Vegetative and reproductive growth, Yield



اثر محلول پاشی کلسیم و نانوکلسیم در کاهش اثرات تنش شوری گوجه فرنگی در مرحله رشد رویشی به روش آبکشت

مریم حقیقی^{۱*} - بهاره نقوی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۹

چکیده

برای بررسی اثر کلسیم و نانوکلسیم در گیاه گوجه فرنگی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و تیمارهای کلرید سدیم با غلظت ۰، ۲۵ و ۵۰ میلی مولار و کلسیم و نانوکلسیم با غلظت صفر، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد که وزن تر ریشه با افزایش تنش شوری به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت و کاربرد ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم باعث جبران کاهش تنش شوری در تیمار ۵۰ میلی مولار شد. همچنین کاربرد ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کلسیم باعث افزایش چشمگیر حجم ریشه در شرایط تنش شوری شدید نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کلسیم و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر نانوکلسیم باعث بهبود معنی دار محتوای کلروفیل در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم شد. در شرایط شوری شدید (۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) اعمال ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم به ترتیب باعث افزایش ۶۰، ۶۳ و ۷۰ درصدی وزن تر و خشک ریشه، وزن تر شاخساره و حجم ریشه نسبت به تیمار بدون کلسیم شد. در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، کاربرد ۱۵۰ میلی گرم در لیتر نانو کلسیم باعث جبران محتوای نسبی آب بافت (۵/۵۸ درصد) در شرایط تنش شد. کلسیم باعث کاهش اثرات تنش شوری شد اما مقایسه اثر کلسیم و نانوکلسیم نشان داد نانوکلسیم باعث ایجاد تغییرات معنی داری نسبت به کلسیم بر تعدیل تنش شوری در صفات رویشی نداشت.

واژه‌های کلیدی: حجم ریشه، شاخص پایداری غشاء سلولی، کلروفیل مقدار نسبی آب بافت

مقدمه

شور بودن خاک‌های زراعی و آب آبیاری را می‌توان جز یکی از عمده‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در اغلب نقاط جهان به ویژه ایران دانست (۱). این مسئله بویژه در نواحی خشک و نیمه‌خشک که از آب‌های شور برای آبیاری استفاده می‌شود، سالانه تشدید می‌گردد. تأثیر شوری بر گیاهان از یک طرف با غلظت کل نمک و نوع یون ویژه آن ارتباط داشته و از طرف دیگر به گونه یا رقم گیاه، مربوط می‌شود. بطور کلی اثرات سوء نمک بر گیاهان را می‌توان ناشی از تجمع نمک‌ها در محیط ریشه و در نتیجه کاهش پتانسیل اسمزی در محیط ریشه، اثرات سمیت ویژه یونی و تحت تأثیر قرار گرفتن فرایندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی گیاهان دانست (۲۲). در اثر شوری سرعت گسترش برگ کاهش یافته و تمامی فرایندهای

اصلی مانند فتوسنتز، ساخت پروتئین و متابولیسم چربی و انرژی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۲۶).

حسین و نونامی (۱۲) در بررسی تنش شوری حاصل از کلرید کلسیم بر پاسخ فیزیولوژیکی گوجه فرنگی رقم Momotaro در شرایط هیدروپونیک گزارش کردند که نرخ رشد میوه، پتانسیل اسمزی و نفوذپذیری غشاء در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد به طور معنی دار کمتر شده است. نتایج تحقیق بابو و همکاران (۲) حاکی از آن بود که سطح برگ و وزن خشک میوه گوجه فرنگی رقم PKM1 تحت تنش شوری کاهش یافت، در حالی که با افزایش غلظت شوری، میزان اسید آسبیزیک، اکسین و پرولین، غلظت سدیم بافت و نسبت پتاسیم به سدیم افزایش و میزان پتاسیم کاهش یافت. رشد گوجه فرنگی در شرایط شور باعث تغییر ترکیب و غلظت عناصر اندام هوایی گیاه شده و در این شرایط غلظت سدیم و کلر به شدت افزایش و غلظت پتاسیم، کلسیم، منیزیم و نیترات کاهش می‌یابد. در پژوهشی دیگر مشخص شد که درصد کاهش عملکرد گوجه فرنگی در ۲/۵، ۳/۵ و ۷/۶ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب ۰، ۱۰ و ۵۰ می‌باشد (۲۳). همچنین محققین بیان کردند که تنش شوری در گوجه فرنگی باعث

۱ و ۲- استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه صنعتی اصفهان

(Email: mhaghghi@cc.iut.ac.ir

*) نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.40107

کاهش رشد رویشی و کاهش عملکرد می‌گردد. همچنین طول ریشه گوجه‌فرنگی تحت تنش کاهش می‌یابد (۳۲).

کلسیم نقش اساسی در تکمیل ساختمان غشا سلولی، پایداری دیواره سلولی، تنظیم انتقال یون و جذب انتخابی غشا دارد (۷). یون کلسیم اثرات قابل توجهی در فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان داشته و فاکتورهای مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان تحت تنش شوری را بهبود می‌بخشد. شوری به علل متعددی از جمله سمیت یونی و برهم زدن روابط تغذیه‌ای گیاه، بر روی شاخص‌های رشد گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد. یکی از اثرات منفی تنش شوری بر روی گیاهان، بر هم‌زدن تعادل عناصر غذایی مهمی از جمله پتاسیم، آهن و کلسیم بوده که غلظت این عناصر تحت تأثیر میزان سدیم و کلسیم خارج سلولی می‌باشد. یون‌های کلسیم و سدیم دارای اثرات رقابتی بوده و تنظیم مناسب این دو عنصر بر غلظت عناصر مذکور تأثیر بسزایی دارد (۲۴). برای افزایش مقاومت گیاهان به شوری با استفاده از برخی از مواد شیمیایی کاهش‌دهنده جذب و تجمع سدیم تلاش‌هایی صورت گرفته است. آزمایش‌ها نشان داده اضافه کردن کلسیم به محیط، سبب کم کردن خسارت شوری می‌شود (۷، ۱۹ و ۲۸). تأمین مقدار کافی کلسیم در محیط‌های شور عامل مهمی در کنترل شدت سمیت یون‌های ویژه نظیر سدیم و کلر در گیاهان حساس می‌باشد. وجود مقدار کافی کلسیم در محیط باعث تکامل غشای سلولی گیاه و حفظ ویژگی‌های انتخاب‌پذیری آن شده و سمیت کلر و سدیم را در گیاهان کاهش می‌دهد (۷). تأثیر کلسیم در کاهش اثرات زیان‌آور شوری حاصل از سدیم، بستگی به نوع گیاه، غلظت کلسیم و منبع سدیم دارد (۱۴). کلسیم از انتقال سدیم به اندام‌های هوایی جلوگیری کرده و از این راه تأثیر منفی شوری را کم می‌کند. مقدار کافی این عنصر تحت تنش شوری می‌تواند مقدار برداشت سدیم را کاهش دهد و با کاهش نسبت سدیم به پتاسیم شرایط رشد را برای گیاه مناسب‌تر سازد. یون‌های سدیم ممکن است برای مکان‌های اتصال کلسیم در غشا رقابت کنند بنابراین میزان بالای کلسیم می‌تواند غشاء سلول را از اثرات نامطلوب شوری حفظ نماید (۲۱). جذب انتخابی یون‌هایی مانند پتاسیم، آهن و روی در ریشه گیاه تحت شوری مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج نشان می‌دهد که در صورت وجود میزان مناسبی از کلسیم در محیط رشد ریشه جذب انتخابی ریشه بهبود یافته و در نتیجه عناصر مفیدی مانند پتاسیم بهتر جذب ریشه گیاه می‌شود (۲۰). اثر کلسیم به زمان نیز بستگی دارد، تنش شوری کمبود کلسیم در گیاه ایجاد می‌کند و اعمال کلسیم اثر تنش شوری را بهبود می‌بخشد. در بسیاری از بررسی‌ها افزایش کلسیم به محیط کشت همبستگی ضعیفی با تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی را نشان می‌دهد و پیشنهاد شده است که این عامل باید با شرایط اسمزی کنترل شود (۵). سروش زاده و امین پناه (۲۸) مشاهده کردند که آغشته کردن بذرهای برنج با نیترات کلسیم باعث کاهش اثرات شوری می‌گردد. نقش

کلسیم تنظیم انتقال یون‌ها به سلول‌های گیاهی، تکامل ساختمان غشای پلاسمایی و کاهش نفوذپذیری غشا نسبت به یون‌های کلر، سدیم و اصلاح هدایت هیدرولیکی ریشه است (۷). اثر بهبوددهنده یون کلسیم ممکن است به علت حفظ انسجام سلولی و اعمال غشای پلاسمایی در ریشه و بخش هوایی باشد (۳۱). امروزه افزودن نانوذرات به گیاهان به عنوان کود به دلیل داشتن اثرات بی‌نظیر مانند نفوذ سریع‌تر و راحت‌تر به درون غشای سلولی، توجه محققین را به خود جلب کرده است. تحقیقات محدودی اثر نانو ذرات مختلف را بر رشد و فیزیولوژی گیاهان مورد بررسی قرار داده است. نانولوله‌های کربنی می‌تواند باعث ایجاد رخنه در بذر گوجه‌فرنگی و در نتیجه تسهیل ورود آب و اکسیژن به بذر شود، همچنین این احتمال وجود دارد که نانولوله‌های کربنی با تأثیر بر آکوپورین‌ها (کانال‌های عبور آب در غشا) و تنظیم عمل آن‌ها بتواند به ورود آب به درون سلول‌ها کمک کند (۱۳). نانوتیتانیوم باعث افزایش قدرت، استحکام ریشه و افزایش توانایی ریشه در جذب آب، کود و افزایش فعالیت نیترات‌ردوکتاز شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز را افزایش داد (۱۷). تحقیق مظفریان و همکاران (۲۲) نشان داد که نانو سیلیسیم باعث افزایش طول شاخساره و ریشه‌چه نسبت به بذرهای گوجه‌فرنگی تیمار شده با سیلیکات پتاسیم شد (۲۲). زو و همکاران (۳۲) گزارش کردند کدو تنبل (*Cucurbita maxima*) که در بستر آبی حاوی نانوذرات منیزیم رشد یافته می‌تواند ذرات را در بافت گیاهی جذب، انتقال و ذخیره نماید، در حالی‌که لوبیای آمریکایی (*Phaseolus limensis*) قادر به جذب و انتقال این ذرات نیست. این نشان می‌دهد که گیاهان مختلف پاسخ‌های متفاوتی به چنین ذراتی نشان می‌دهند (۳۲). با در نظر گرفتن این نکته که ذرات نانو ریزتر از فرم معمولی کلسیم بوده و در رقابت با سایت‌های یونی ریشه در جذب نمی‌باشند پژوهشی به منظور بررسی اثر شوری و کلسیم تکمیلی به صورت محلول‌پاشی به دو فرم فلزی و نانوفلزی بر رشد رویشی گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط کشت آبکشت طراحی شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر کلسیم و نانوکلسیم بر خصوصیات رویشی گیاه گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای (*Lycopersicon esculentum* var Falcato) تحت شرایط تنش شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و ۱۵ تیمار شامل کلریدسدیم با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار به محلول غذایی اضافه شد. تیمار کلسیم و نانوکلسیم به صورت کلسیم (نیترات کلسیم) غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانوکلسیم با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه

گلخانه‌ای با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و با طول دوره روشنایی به تاریکی ۱۴ به ۱۰ ساعت منتقل شد؛ سطح محلول غذایی در داخل ظروف به میزان ثابت نگه داشته شد.

صنعتی در تابستان ۱۳۹۰ انجام شد. بذره‌های گوجه‌فرنگی در سینی‌های نشا ۷۰ خانه‌ای با حجم ۵۰ سی‌سی در بسترکشت کوکوپیت کشت شدند. نشاهای گوجه‌فرنگی پس از رسیدن به مرحله ۲-۳ برگ (بعد از گذشت یک ماه) به سیستم آبکشت (Raft) با سیستم هوادهی بوسیله پمپ‌های هوا حاوی محلول غذایی هوگلند (جدول ۱) در

جدول ۱- ترکیبات محلول غذایی هوگلند

Table 1- Hoagland nutritional solution compounds

ترکیب Compound	محلول پایه Base solution (g/L)	میلی‌لیتر محلول پایه در یک لیتر Base solution (ml/L)
نترات پتاسیم KNO_3	202	2.5
نترات کلسیم تترا هیدراته $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	236	2.5
آهن Iron (Sprint 138 iron chelate)	15	1
سولفات منیزیم هپتا هیدراته $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	439	1
نترات آمونیوم NH_4NO_3	80	1
بوریک اسید H_3BO_3	2.86	1
کلرید منگنز تترا هیدراته $MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.81	1
سولفات روی هپتا هیدراته $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.22	1
سولفات مس $CuSO_4$	0.051	1
$H_3MoO_4 \cdot H_2O$	0.09	1
مونوفسفات پتاسیم KH_2PO_4 (pH to 6.0)	136	0.5

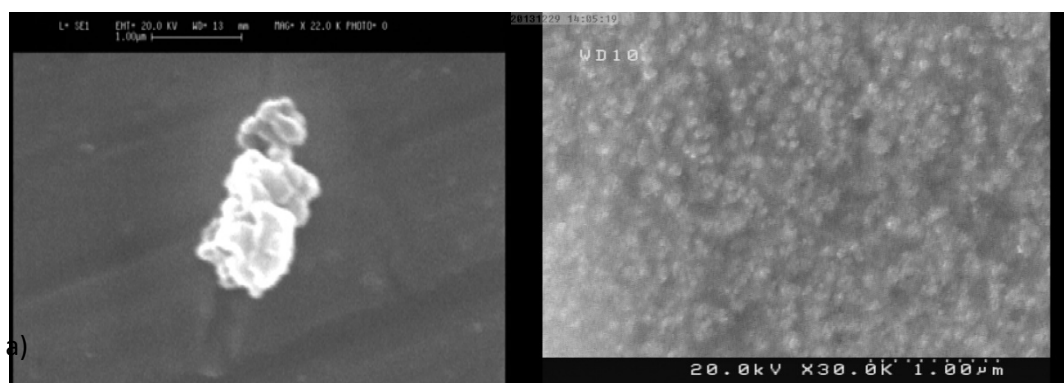
و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول پاشی به فاصله زمانی ده روز به شکلی که از برگ‌ها ریزش کند، اعمال شدند. خصوصیات نانو کلسیم تهیه شده از پژوهشکده نانوتکنولوژی دانشگاه شیراز در جدول ۲ و شکل ۱ نشان داده شده است. به منظور جلوگیری از تنش شوری بر نشاهای گوجه‌فرنگی، تیمارهای شوری تا رسیدن به غلظت نهایی مورد مطالعه به تدریج اعمال شدند. در تمام مراحل رشد اسیدیته محلول غذایی با استفاده از اسیدسولفوریک یا هیدروکسید پتاسیم در محدوده ۵/۸ تا ۶/۲ و هدایت الکتریکی ۵ کنترل شد.

به منظور جلوگیری از نفوذ نور و رشد نکردن جلبک‌ها درون ظروف محتوای محلول غذایی اطراف ظروف با پلاستیک مشکی ضخیم پوشانده و پس از استقرار گیاه در سیستم آبکشت تیمارهای مورد نظر اعمال شد. یک هفته پس از استقرار کامل گیاهان در شرایط نسبتاً کنترل شده گلخانه، تیمارهای مورد نظر (۱۵ تیمار) شامل کلرید سدیم با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار به محلول غذایی اضافه شد. تیمار کلسیم و نانوکلسیم به صورت کلسیم (نترات کلسیم) غلظت‌های صفر به عنوان شاهد، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانو کلسیم با غلظت‌های صفر به عنوان شاهد ۱۵۰

جدول ۲- خصوصیات نانو کلسیم تهیه شده از پژوهشکده نانو دانشگاه شیراز

Table 2- Properties of nano-calcium prepared from the Nano Research Institute of Shiraz University

خصوصیات ساختاری	
Structural characteristics	
تجزیه و تحلیل ترموگرافی	5.0 ± 0.2
Thermogravimetric analysis (TGA)	
اندازه	20-35
Size (nm)	
درصد خلوص	98
Percentage purity (%)	
سطح فعال	461
Active level (m^2g^{-1})	



شکل ۱- عکس TEM (a) و SEM (b) ذرات نانو کلسیم توسط دستگاه

(Model: Stereo Scan S360, Oxford) Scanning electron microscopy

Figure 1- TEM (a) and SEM (b) pictures of calcium nanoparticles (Model: Stereo Scan S360, Oxford)

آزمایش قرار داده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و در نهایت و به وسیله EC متر، اندازه گرفته شد. پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و EC₂ اندازه گیری شد. از طریق معادله زیر میزان MSI (Membrane stability index) تعیین شد (۲۷).

$$MSI = 1 - \left(\frac{EC_1}{EC_2} \right) \times 100$$

برای اندازه گیری وزن تر و خشک، ابتدا ریشه از محل طوقه از قسمت شاخساره جدا و وزن تر ریشه و شاخساره به طور جداگانه با ترازوی دیجیتال دقیق (± 0.01) توزین گردید، سپس نمونه های ریشه و شاخساره به طور جداگانه درون پاکت قرار گرفتند و در آزمایشگاه درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. از ترازوی دیجیتالی دقیق برای توزین وزن خشک نمونه ها استفاده شد. داده ها با استفاده از نرم افزار Statistix-8 و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد سنجیده شد.

برای اندازه گیری میزان کلروفیل برگ پس از گذشت یک ماه از اعمال تیمارها، با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (مدل SPAD-502) کلروفیل از هر برگ قرائت شد. سپس بخش های مختلف گیاه به طور جداگانه برداشت و حجم ریشه، به روش تغییر حجمی آب طبق قانون ارشمیدس بر حسب میلی متر برآورد گردید و طول ریشه و ساقه با خط کش اندازه گیری شد. جهت تعیین مقدار نسبی آب بافت (RWC) به طور تصادفی برگ های تازه گیاه انتخاب و به اندازه یک سانتی متر جدا و وزن شد (W_1). این قطعات برگ در آب مقطر در محل تاریک در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد و پس از ۲۴ ساعت دوباره وزن شد (W_f) و سپس وزن خشک این قطعات پس از قرار دادن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت اندازه گیری شد (۲۹) و از فرمول زیر جهت محاسبه مقدار نسبی آب بافت استفاده شد (۲۵).

$$RWC = \frac{W_f - W_d}{W_f - W_d} \times 100$$

برای اندازه گیری شاخص پایداری غشا سلول از برگ های کاملاً گسترش یافته ۵ و ۶ دیسک یک سانتی متری تهیه و درون لوله

نتایج

شوری باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه شد، به‌طوری‌که کمترین وزن تر ریشه در تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلریدسديم مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۲۵ درصد کاهش وزن داشت (جدول ۳). تیمارهای مختلف کلریدسديم تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت اما کاهش جزئی وزن خشک ریشه با اعمال کلریدسديم مشاهده، به‌طوری‌که کمترین وزن خشک ریشه در تیمار ۲۵ میلی‌مولار کلریدسديم بود. وزن تر و خشک شاخساره با اعمال شوری نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت به‌طوری‌که در

تیمار ۲۵ میلی‌مولار کلریدسديم نسبت به تیمار شاهد ۲۹ درصد کاهش داشت. حجم ریشه نیز طی تنش کاهش یافت و کمترین حجم ریشه در تیمار ۲۵ میلی‌مولار کلریدسديم بود که نسبت به شاهد ۲۵ درصد کاهش داشت. با افزایش غلظت کلریدسديم محتوای کلروفیل به طور معنی‌داری کاهش یافت و کمترین محتوای کلروفیل در تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلریدسديم بود. بیشترین شاخص پایداری غشا سلول در تیمار ۲۵ میلی‌مولار کلریدسديم مشاهده شد. طول ریشه طی تنش شوری افزایش یافت به‌طوری‌که در تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلریدسديم بیشترین طول ریشه مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کلرید سديم بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی

Table 3- Main effects of different concentrations of NaCl on vegetative characteristics of tomato plants

کلرید سديم NaCl	طول ریشه Root length (cm)	طول شاخساره shoot length (cm)	محتوای نسبی آب یافت RWC (%)	نشت الکترولیت Electrolyte Leakage (%)	محتوای کلروفیل Chlorophyll content (%)	حجم ریشه Root volume (cm ³)	وزن خشک شاخساره Dry weight shoot (g)	وزن تر شاخساره Fresh weight shoot (g)	وزن خشک ریشه Dry weight root (g)	وزن تر ریشه Fresh weight root (g)
شاهد Control	25.55 b	13.28 a	72.02 a	46.11 b	29 a	2.68 a	1.41 a	12.42 a	0.15 a	3.07 a
۲۵ میلی‌مولار 25 mM	26.28 b	12.60 a	69.68 a	56.54 a	26.22 b	2 b	1.04 b	8.79 b	0.12 a	3.07 a
۵۰ میلی‌مولار 50 mM	33.32 a	14.54 a	67.94 a	44.06 b	23.01 c	2.50 ab	1.11 b	10.29 b	0.14 a	2.28 b

میانگین‌هایی که در یک حرف در هر ستون متفاوت هستند دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

The meanings that differ in a letter in each column have a significant difference of 1% probability level based on the LSD test.

مشاهده شد. محتوای کلروفیل تحت تأثیر تیمار نانوکلسیم قرار گرفت به‌طوری‌که بیشترین محتوای کلروفیل در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم مشاهده شد. بیشترین شاخص پایداری غشا سلول در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و نانوکلسیم، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم و شاهد نداشت. محتوای نسبی آب یافت تحت تأثیر تیمار کلسیم و نانوکلسیم قرار گرفت به‌طوری‌که در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و نانوکلسیم بیشترین مقدار مشاهده شد. بیشترین طول ریشه در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و نانوکلسیم مشاهده شد که به‌ترتیب نسبت به تیمار شاهد ۱۰ و ۷ برابر افزایش داشت، با اعمال تیمارهای کلسیم و نانوکلسیم طول شاخساره کاهش یافت و به کمترین مقدار در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم رسید (جدول ۴).

نتایج آزمون مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین وزن تر ریشه در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم نداشت. اعمال تیمار کلسیم و نانوکلسیم باعث کاهش وزن خشک ریشه شد و کمترین وزن خشک در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم بود که نسبت به تیمار شاهد ۳۵ درصد کاهش داشت، علت این امر را می‌توان سمیت نانوکلسیم بر رشد ریشه دانست. تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و نانوکلسیم با شاهد در وزن تر شاخساره نداشت. با اعمال تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و نانوکلسیم وزن خشک شاخساره کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک شاخساره در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین حجم ریشه در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم و کمترین حجم ریشه در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم

جدول ۴- اثرات اصلی غلظت‌های مختلف کلسیم و نانو کلسیم بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه فرنگی

Table 4- Main effects of different concentrations of Ca and Nano- Ca on vegetative characteristics of tomato plants

کلسیم و نانو کلسیم Ca and Nano-Ca (mg/l)	طول ریشه Root length(cm)	طول شاخساره shoot length(cm)	محتوای نسبی آب بافت RWC (%)	نشت الکترولیت Electrolyte Leakage (%)	محتوای کلروفیل Chlorophyll content (%)	حجم ریشه Root volume (cm ³)	وزن خشک شاخساره Dry weight shoot	وزن تر شاخساره Fresh weight shoot	وزن خشک ریشه Dry weight root	وزن تر ریشه Fresh weight root
شاهد Control	30.17 a	17.17 a	67.62 ab	48.63 ab	25.98 b	2.83 ab	1.74 a	12.85 a	0.17 a	3.23 a
کلسیم - ۱۵۰ 150- Ca	33.66 a	11.62 b	74.64 a	37.20 b	25.47 b	3.33 a	1.55 a	12.99 a	0.12 b	3.58 a
کلسیم - ۲۰۰ 200- Ca	21.16 b	12.70 b	64.76 b	52.56 a	25.68 b	1.91 c	1.03 b	8.27 b	0.13 ab	2.16 b
کلسیم نانو - ۱۵۰ 150- Nano-Ca	32.45 a	14.33 ab	74.35 a	47.53 ab	28.52 a	2.33 bc	0.88 b	11.19 a	0.16 ab	2.92 a
کلسیم نانو - ۲۰۰ 200- Nano-Ca	24.46 b	11.55 b	68.01 ab	58.59 a	24.73 b	1.55 c	0.73 b	7.19 b	0.11 b	2.14 b

میانگین‌هایی که در یک حرف در هر ستون متفاوت هستند دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

The meanings that differ in a letter in each column have a significant difference of 1% of probability level based on the LSD test.

شاهد شد (جدول ۵). اثرات سمیت نانو کلسیم ۲۰۰ میلی گرم در لیتر در تیمار ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد به طوری که این تیمار باعث کاهش ۲۰ درصدی محتوای کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شد. علت این مشکل را می‌توان نفوذ بهتر نانوذرات به بافت گیاه دانست. در تنش شوری ملایم (۲۵ میلی مولار کلرید سدیم)، اعمال ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم و نانو کلسیم به ترتیب باعث افزایش ۱۳ و ۱۴ درصدی محتوای نسبی آب بافت نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم شد. در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم اعمال تیمارهای کلسیم و نانو کلسیم باعث افزایش محتوای نسبی آب بافت شد (جدول ۵).

در تیمار شوری ملایم (۲۵ میلی مولار کلرید سدیم)، اعمال تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم باعث افزایش ۱۰ درصدی و معنی‌دار طول ریشه نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم شد. در تیمارهای ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، اعمال کلسیم و نانو کلسیم ۱۵۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش ۱۷ و ۸ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم شد. در تیمار ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم اعمال ۱۵۰ میلی گرم در لیتر نانو کلسیم باعث افزایش ۱۲ درصدی طول شاخساره نسبت به تیمار بدون اعمال نانو کلسیم شد و در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم اعمال ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم باعث افزایش معنی‌دار طول شاخساره نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم شد، همچنین بیشترین طول شاخساره در این تیمار مشاهده شد (جدول ۵).

در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، اعمال تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلسیم باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به تیمار تنش شوری بدون اعمال کلسیم (۶۰ درصد افزایش) شد، همچنین بیشترین وزن تر ریشه در این تیمار مشاهده شد. در تیمار ۲۵ و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم به ترتیب اعمال تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کلسیم و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر نانو کلسیم باعث کاهش ۴۹ و ۴۰ درصدی وزن تر ریشه نسبت به تیمار شوری بدون اعمال کلسیم و نانو کلسیم شد. در تنش شوری ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، اعمال تیمار ۱۵۰ میلی گرم کلسیم باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم (۶۵ درصد افزایش) شد. بیشترین وزن تر شاخساره در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم و ۱۵۰ میلی گرم کلسیم مشاهده شد که ۵۰ درصد نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم افزایش داشت (جدول ۵). در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، اعمال تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلسیم باعث افزایش معنی‌دار حجم ریشه شد به طوری که نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم ۷۰ درصد افزایش داشت، همچنین بیشترین حجم ریشه در این تیمار مشاهده شد (جدول ۵).

در تیمار ۲۵ میلی مولار کلرید سدیم، اعمال تیمار ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر کلسیم باعث افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم شد. در تیمار ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم نیز تیمار ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر نانو کلسیم باعث افزایش ۲۲ درصدی نسبت به

بحث

یون‌ها نظیر سدیم و کلر در گیاهان حساس می‌باشد. در آزمایش حاضر با اعمال تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم فلزی و نانوکلسیم اثرات تنش شوری کاهش یافت. از دلایل کاهش تنش شوری با استفاده از کلسیم می‌توان به کاهش جذب سدیم (۱۶ و ۱۸) و افزایش جذب پتاسیم (۹) اشاره کرد. لویز و ساتیا (۱۶) اظهار داشتند که در صورت وجود غلظت مناسبی از کلسیم، مقاومت گیاهان به شوری بیشتر می‌شود زیرا وجود کلسیم در خاک از تجمع سدیم جلوگیری می‌کند. در آزمایشی توسط مظلومی و همکاران (۱۸) در بررسی کلسیم (۰، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به صورت اضافه کردن به محلول غذایی و ۰/۵ و ۱ درصد به صورت محلول‌پاشی) در شرایط شوری (۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار) در گیاه توت‌فرنگی مشاهده شد که کاربرد کلسیم تکمیلی سبب افزایش غلظت کلسیم در بافت‌های گیاه می‌شود اما در کاهش اثرات منفی تنش شوری بر رشد رویشی توت‌فرنگی مؤثر نبوده است (۱۸).

مکانیسم سازگاری گیاه با شرایط شوری بسیار پیچیده است، از دلایل کاهش رشد گیاه در شرایط شور تجمع یون‌های سمی، کلر و سدیم در بافت‌های گیاهی می‌باشد که سبب کاهش فعالیت آنزیمی و تغییر الگوی توزیع کربوهیدرات‌ها می‌شود. لی (۱۵) نشان داد که وزن تر و خشک، میزان مواد جامد محلول با افزایش غلظت کلرید سدیم در گیاه گوجه‌فرنگی (رقم Zhongsu5) کاهش می‌یابد. که با نتایج آزمایش حاضر در رقم Falcato همخوانی دارد. همچنین افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم مالون‌دی‌آلدهید با افزایش غلظت کلرید سدیم گزارش شد. از سوی دیگر، کاهش وزن تر و خشک شاخساره و ریشه گوجه‌فرنگی در شرایط شور گزارش شده است (۸) که می‌توان کاهش رشد گیاه را به علت کاهش رشد سطح برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز و ساخت پروتئین‌ها مربوط دانست (۲۶). تأمین مقدار کافی کلسیم در محیط‌های شور عامل مهمی در کنترل شدت سمیت

جدول ۵- اثر متقابل NaCl × غلظت‌های مختلف کلسیم و نانو کلسیم بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی
Table 5- Interaction of NaCl × Ca or Nano-Ca concentrations on vegetative characteristics of tomato plants

سطوح کلسیم و نانو کلسیم Ca and Nano-Ca levels (mg/l)	NaCl (mM)	محتوای کلروفیل Chlorophyll content (%)	حجم ریشه (Root volume (cm ³))	وزن خشک شاخساره Dry weight shoot (g)	وزن تر شاخساره Fresh weight shoot (g)	وزن خشک ریشه Dry weight root (g)	وزن تر ریشه Fresh weight root (g)
۰	0	26.95 cd	4.50 ab	2.62 a	17.14 ab	0.27 a	4.54 ab
150-Ca		27.80 bc	3.50 bc	1.46 cd	11.34 cd	0.07 f	3.47 bc
200mg/l Ca		25.85 c-f	2 de	1.21 d-f	6.56 e-g	0.14 b-f	2.01 de
150-Nano-Ca		35.75 a	2.5 cd	1.14 d-f	11.99 cd	0.18 bc	3.04 cd
200-Nano-Ca		28.67 bc	0.90 e	0.63 f	4.45 fg	0.11 b-f	2.31 c-e
شاهد Control	25	28.02 bc	2.50 cd	2.02 bc	11.84 cd	0.17 b-d	3.03 cd
150-Ca		30.60 b	1.50 de	0.90 d-f	8.44 d-f	0.10 c-f	1.68 e
200- Ca		26.57 c-e	1.50 de	0.61 f	4.01 g	0.08 ef	1.53 e
150-l Nano-Ca		23.62 e-h	2.25 c-e	0.73 ef	10.27 c-e	0.14 b-f	2.71 c-e
200-Nano-Ca		22.27 g-i	2.25 cde	0.96 d-f	9.37 de	0.13 b-f	2.45 c-e
شاهد Control	50	20.40 i	1.50 de	0.059 f	9.57 de	0.07 ef	2.14 de
150-Ca		20.60 hi	5 a	2.30 ab	19.21 a	0.19 ab	5.58 a
200-Ca		24.62 d-g	2.258 c-e	1.26 de	14.23 bc	0.18 bc	2.94 cd
150-Nano-Ca		26.20 c-f	2.25 c-e	0.78 ef	11.32 cd	0.15 b-e	3.03cd
200-Nano-Ca		23.25 f-i	1.50 de	0.61 f	7.75 d-g	0.10 d-f	1.68 e

میانگین‌هایی که در یک حرف در هر ستون متفاوت هستند دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

The meanings that differ in a letter in each column have a significant difference of 1% of probability level based on the LSD test.

ادامه جدول ۵- اثر متقابل شوری و غلظت‌های مختلف کلسیم و نانو کلسیم بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه فرنگی
Continue the table 5- Interaction effect of salinity and different concentrations of Ca and Nano-Ca on vegetative indices of tomato plants

محتوای نسبی آب بافت (%) RWC (%)	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length(cm)	طول شاخساره (سانتی‌متر) shoot length(cm)	شوری Salinity	سطوح کلسیم و نانو کلسیم Ca and Nano- Ca levels
80.02 ab	30.25 bc	13 b-d	میلی‌مولار 0 mM	.
80.60 a	30.25 bc	14 b-d		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 150mg/l Ca
67.62 b-f	17 f	10 cd		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 200mg/l Ca
61.27 ef	32 bc	13.75 b-d		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 150mg/l Nano-Ca
68.60 b-f	18.27 ef	15.69 bc		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 200mg/l Nano-Ca
64.66 c-f	26.27 c-e	14.02 b-d	۲۵ میلی‌مولار 25 mM	.
74.73 a-d	75.29 bc	10.87 b-d		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 150mg/l Ca
62.59 d-f	20.50 d-f	10.50 cd		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 200mg/l Ca
75.34 a-c	87.27 cd	16.75 bc		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 150mg/l Nano-Ca
70.98 a-e	27 cd	10.87 b-d		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 200mg/l Nano-Ca
58.20 f	34 a-c	10 cd	۵۰ میلی‌مولار 50 mM	.
66.60 c-f	41 a	24.5 a		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 150mg/l Ca
64.08 c-f	26 c-e	17.62 ab		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم 200mg/l Ca
79.20 ab	37.5 ab	12.5 b-d		۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 150mg/l Nano-Ca
71.79 a-e	28.12 cd	8.10 d		۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کلسیم 200mg/l Nano-Ca

میانگین‌هایی که در یک حرف در هر ستون متفاوت هستند دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

The meanings that differ in a letter in each column have a significant difference of 1% based on the LSD test.

کاهش جذب و انتقال سدیم به اندام هوایی، افزایش جذب پتاسیم (۹) و در نتیجه افزایش نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه، بهبود متابولیسم نیتروژن و فعالیت فتوسنتزی گیاه (۴) دانست. گرجی و همکاران (۷) گزارش کردند که افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی می‌تواند تا حدودی آثار مخرب شوری بر رشد گیاه گلرنگ در شرایط آبکشت تعدیل نماید. در آزمایش میرزایی و همکاران (۱۹) گزارش کردند که شوری تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب بافت ندارد و علت این امر را احتمالاً به دلیل مقاومت بالای گیاه زینان به شوری بیان کردند.

گرجی و همکاران (۷) بیان کردند که کاهش وزن خشک در شرایط شور به دلیل کاهش نرخ فتوسنتز در واحد سطح برگ، کاهش جذب کربن و صدمه به بافت‌ها می‌باشد. آنها مشاهده کردند که اضافه کردن کلسیم باعث کاهش شرایط تنش می‌شود و کمترین کاهش وزن خشک را در تیماری که کلسیم اعمال کرده بودند مشاهده کردند (۷) که در این آزمایش نیز با اعمال ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلسیم تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کمترین کاهش وزن خشک نسبت به تیمار بدون اعمال کلسیم مشاهده شد که دلیل این امر را می‌توان

نانوتیتانیوم باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه نسبت به کاربرد تیتانیوم می‌شود. پیوندی و همکاران (۲۳) در تحقیق خود در بررسی کود آهن نانو و غیرنانو در ریحان بیان کردند که کود آهن تهیه شده از فناوری نانو در غلظت‌های کمتر از آهن معمولی باعث افزایش رشد کمی و کیفی ریحان شود. افزایش عملکرد میوه، تعداد میوه، طول و عرض میوه بادمجان در اثر اعمال تیمار نانوذرات آهن توسط بزرگی (۳) نیز گزارش شده است. در این تحقیق نیز کاهش اثرات تنش شوری بوسیله کلسیم مشاهده شد اما نانوکلسیم اثرات کمتری نسبت به کلسیم داشت و احتمالاً علت این امر را می‌توان غلظت‌های نانو کلسیم مورد استفاده دانست که استفاده از غلظت‌های کمتر در تحقیقات آینده جهت دست یافتن به غلظت‌های مناسب احتمالی پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

استفاده از نانوکلسیم برای کاهش تنش شوری برای اولین بار در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفته شد، نتایج این آزمایش نشان داد که به‌طور کلی کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم برلیتر کلسیم بر بسیاری از صفات گوجه‌فرنگی نظیر وزن تر ریشه و شاخساره، طول ریشه و شاخساره و حجم ریشه تحت تنش شوری خصوصاً شوری شدید (۵۰ میلی مولار کلرید سدیم) مؤثر بود. مقایسه اثر کلسیم و نانوکلسیم نشان داد کوچک‌تر شدن اندازه ذرات (شعاع اتمی کلسیم ۱۸۰ pm و شعاع یونی آن ۱۱۴pm در مقایسه با اندازه ۲۰ تا ۳۵ نانومتر، نانو کلسیم) اثر بارزی بر تعدیل تنش شوری نسبت به کلسیم نداشت و شاید علت را غلظت‌های مورد استفاده نانوکلسیم دانست بنابراین در زمینه استفاده از نانوکلسیم و سایر مواد نانو و همچنین تعیین غلظت مناسب مواد نانو نیاز به تحقیقات بیشتری است.

صادقی لطف آبادی و همکاران (۲۶) در بررسی کلرید پتاسیم و کلرید کلسیم در شرایط شور بر گیاه سورگوم مشاهده کردند که مصرف کلسیم موجب افزایش محتوای نسبی آب بافت، میزان کلروفیل و وزن خشک در سه مرحله رشدی شده است. افزایش محتوای نسبی آب بافت با اعمال ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوکلسیم در تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج آزمایشی در گیاه گندم نشان داد که افزایش غلظت کلسیم در محیط شور موجب افزایش ماده خشک، محتوای رطوبت، نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه از طریق افزایش محتوای پتاسیم و کاهش سدیم در گیاه شد (۱۰) که نتایج این آزمایش با آزمایش ما همخوانی داشت. در آزمایشی توسط جهانی و همکاران در بررسی اثر کلسیم در کاهش تنش شوری در گیاه جو مشاهده کردند که با افزایش تنش شوری میزان کلروفیل گیاه کاهش یافت، ولی با افزودن کلسیم به طور معنی‌داری میزان کلروفیل افزایش می‌یابد (۶).

تحقیقات اندکی در زمینه استفاده از نانوذرات در رشد گیاهان موجود است و استفاده از نانوکلسیم برای اولین بار در کاهش تنش شوری مورد استفاده قرار گرفته است اما اثرات مفید برخی از مواد نانو در گیاهان به اثبات رسیده است. نتایج تحقیقات طلاگر و همکاران (۲۹) نشان داد که با کاربرد نانوذرات روی در گیاه سیر با افزایش غلظت نانوروی از ۱۰ به ۵۰ میلی‌گرم در لیتر طول ریشه کاهش می‌یابد. هونگ و همکاران (۱۱) در بررسی نانو اکسید تیتانیوم در جلوگیری از پیری کلروپلاست اسفناج در شرایط نوری مشاهده کردند که نانوتیتانیوم باعث بهبود فتوسنتز و رشد گیاه اسفناج می‌شود، این محققین دلیل این امر را افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز و در نتیجه کاهش رادیکال‌های اکسیژن فعال بیان کردند (۱۱). نتایج تحقیقات یانگ و همکاران (۳۰) نشان داد که با کاربرد تیتانیوم و نانوتیتانیوم در اسفناج،

منابع

- 1- Astaraei A., and Forouzan Ghohar M. 2000. Effect of calcium ion on germination and seeding growth of lentil (*Lens Culinaris* Medik) in different levels of salinity. Biaban, 5(2): 37-46. (In Persian)
- 2- Babu M.A., Singh D., and Gothandam M. 2012. The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 22(1): 159-164.
- 3- Bozorgi H.R. 2012. Effects of foliar spraying with marine plant *Ascophyllum nodosum* extract and nano iron chelate fertilizer on fruit yield and several attributes of eggplant. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science, 7(5): 357-361.
- 4- Busch D.S. 1995. Calcium regulation in plant cell and its role in signaling. Annual Review of Plant Physiology Journal, 46: 95-102.
- 5- Fahimi H., and Haji Boland R. 1996. Responses of barley plants to effects of sodium-calcium in saline conditions. Journal of Science, University of Tehran, 22(1): 43-56. (In Persian)
- 6- Gahani S., Lahooti M., and Abbasi F. 2011. Effect of Na^+ - Ca^{+2} interactions on changes in soluble sugars and chlorophyll meter in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Reyhan). First National Conference on Sustainable Agricultural Sustainability Strategies. Payame Noor University of Khuzestan Province. Khordad. 1390.
- 7- Goorgi M., Zahedi M., and Khoshgoftarmanesh A.H. 2010. Effect of potassium and calcium on safflower response to salinity due to sodium chloride in aquatic environment. Journal of Agricultural Science and Technology. Water

- and Soil Science, 14(53): 1-7. (In Persian)
- 8- Hajer A.S., Malibari A.A., Al-Zahrani H.S., and Almaghrabi O.A. 2006. Responses of three tomato cultivars to sea water salinity I. Effect of salinity on the seedling growth. *African Journal of Biotechnology*, 5: 855-861.
- 9- Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.M., and Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to highsalinity. *Annual Review of Plant Physiology*, 51: 463-499.
- 10- Hawkins H.J., and Lewis O.A.M. 1993. Combination effect of sodium chloride salinity, nitrogen and calcium concentration on the growth: Ionic content and gaseous exchange properties of *Tritium aestivum*. L. C.V. Gamtoos. *New Phytology*, 124: 167-170.
- 11- Hong F.S., Yang F., Ma Z.N., Zhou J., Liu C., Wu C., and Yang P. 2005. Influences of nano-TiO₂ on the chloroplast ageing of spinach under light. *Biology Trace Element Research*, 104: 249-260.
- 12- Hossain M.M., and Nonami H. 2012. Effect of salt stress on physiological response of tomato fruit grown in hydroponic culture system. *Horticulture Science*, (Prague) 39(1): 26-32.
- 13- Khodakovskaya M., Dervishi E., Mahmood M., Xu Y., Li Z., Watanabe F., and Biris A.S. 2009. Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*, 3: 3221-3227.
- 14- Khoshgoftarmenesh A.H. 2010. Advanced concepts in plant nutrition. Isfahan University of technology press. 269..(In Persian)
- 15- Li Y. 2009. Physiological Responses of Tomato Seedlings (*Lycopersicon esculentum*) to Salt Stress. *Modern Applied Science*, 3(3): 171-176.
- 16- LopezA.V., and Sattia S.M.E. 1996. Calcium and potassium-enhanced growth and yield of tomato under sodiumchloride stress. *Plant Science*, 114: 19-27.
- 17- Lu C.M., Zhang C.Y., Wen J.Q., Wu G.R., and Tao M.X. 2002. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Science*, 21: 168-172.
- 18- Mazloomi F., Ronaghi A., and Karimian1 N. 2011. Influence of salinity and supplementary calcium on vegetative growth, fruit yield and concentration of some nutrients in hydroponically-grown strawberry. *Science and Technology of Greenhouse Crops*, 2(2):51-63. (In Persian)
- 19- Mirzai S., Rahimi A., DashtiH., and Madah HosseiniSh. 2012. Ameliorating effect of using Calcium and Potassium in ammi. *Iranian Journal of Agricultural Research*, 10(1):189-197. (In Persian)
- 20- Mokhtari A., Abrisham Chi P., and Ganjali A. 2008. Effect of Calcium on improvement of salinity-induced damage on tomato seed germination (*Lycopersicon esculentom* L.). *Journal of Agricultural Sciences and Technology. Special for Horticulture Sciences*, 1(22): 189-199. (In Persian)
- 21- Mozafari M., and Kalantari Kh. 2005. The effect of Calcium ion on changes growth, accumulation of nutrient elements and electrophoretic pattern of polypeptides in *Descurainia sophia* under salt stress. *Iran Biology Magazine*, 18(1): 24-35. (In Persian)
- 22- Mozafarian M., Afifipor Z., and Haghighi M. 2011. Effect silicon and nano silicon on tomato seed priming. *New Technology in Agriculture Congress*. Zanjan University. 496-498. (In Persian)
- 23- peyvandi M., Parande H., and Mirza M. 2011. Comparison of Nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*. NCMBJ, 1(4): 89-98. (In Persian)
- 24- Renault S. 2005. Response of red osier dogwood (*Cornus stolonifera*) seedlings to sodium sulphate salinity: effects of supplemental calcium. *Physiological Plantarum*, 123: 75-81.
- 25- Ritchie S.W., and Nguyen H.T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30: 105-111.
- 26- Sadeghi Lotfabadi S., Kafi M., and Khazai H.R. 2010. Effects of Calcium, Potassium and Method of Application on Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) Morphological and Physiological Traits in the Presence of Salinity. *Journal of Water and Soil*, 24(2): 385-393. (In Persian)
- 27- Sairam R.K., and Srivastava G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agron Crop Science*, 186: 63-70.
- 28- Sorooshzadeh A., and Amin Panah H. 2005. The effect of Calcium Nitrate on Sodium and Potassium distribution in seedlings of rice under saline conditions. *Iran Biology Magazine*, 18(2): 92-100. (In Persian)
- 29- Talgar S., Jianxiu G., Changshan X., ZhikunY., Qing Z., Yuxue L., and Liu Y. 2011. Phytotoxic and genotoxic effects of ZnO nanoparticles on garlic (*Allium sativum* L.): A morphological study. *Nanotoxicology*, 1: 1-8.
- 30- Yang F., Hong F.S., You W.J., Liu C., Gao F., Wu Q., and Yang P. 2006. Influences of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 110: 179-190. (In Persian)
- 31- Yarnia M., Heidari Sharifabad H., and Rahimzadeh Khoei F. 2005. Effect of calcium carbonate on salinity resistance of alfalfa cultivars. *Journal of Modern Agricultural Science*, 1(2): 9-21.
- 32- Zhu H., Han J., Xiao Q., and Jin Y. 2008. Uptake, translocation and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. *Journal Environment Monitoring*, 10: 713-717.



Effect of Ca and Nano-Ca Spray on Reducing the Effects of Salinity Stress on Tomato at Vegetative Growth Stage in Hydro culture

M.Haghighi^{1*} - B. Naghavi²

Received: 28-10-2016

Accepted: 10-11-2018

Introduction: Salinity has deleterious effect through ion toxicity and changes nutrient balance on plant growth parameter. For decreasing the hazardous effect of salinity stress, some effort has done to reduce uptake and accumulation of Na. Adding of Ca decreased these deleterious effect of salinity. Calcium ions have significant effects on the physiological processes of plants and improve the morphological and biochemical factors of plants under salinity stress. The effect of calcium on reducing the harmful impacts of salinity from sodium depends on the plant type, calcium concentration and sodium source. Recently, the addition of nanoparticles to plants as fertilizers has attracted the attention of researchers because of its unpredictable effects, such as faster and easier penetration into the membrane of the cell. A few studies have examined the effect of different nanoparticles on the growth and physiology of plants. So, a research was conducted to investigate the effects of salinity and supplemental calcium in the form of spraying into two metal and nano-metal forms on vegetative growth of tomato plants under crop cultivation conditions.

Materials and Methods: To study the effect of CaCl₂ and Nano-Ca on tomato (*Lycopersicon esculentum* var. Falcato), a factorial experiment based on completely randomized design (CRD) with 4 replicates was designed with NaCl (0, 25 and 50 mM) and Ca and N-Ca (0, 150 and 200 mg/l) in Isfahan University of Technology greenhouse. Indicators include chlorophyll index, relative water content, ion leakage, leaf water potential, root and shoot dry weights, root and shoot length and root volume were measured. Finally, the analysis of the results was done by statistical statistic software and comparing the meanings by LSD test at 5% level.

Result and Discussion: Results showed that Ca and Nano-Ca was effective on decreasing hazardous effect of salinity on fresh and dry weight of shoot and root volume and Ca was more effective than Nano-Ca. In high salinity level (50mM NaCl), application of 150 mg/l Ca increased fresh and dry weight of root, fresh weigh of shoot and root volume by 60, 63, 50 and 70 % compare to control ,respectively. As well as, the highest root length and shoot was observed in this treatment. Application of 200 mg/l calcium and 150 mg/l of nano-calcium significantly improved chlorophyll content in 50 mM sodium chloride treatment. The plant's compatibility mechanism is very complex in the salinity conditions, from reasons for the growth of the plant under saline conditions are the accumulation of toxic ions, chlorine and sodium in plant tissues, which reduces enzyme activity and changes the pattern of carbohydrate distribution. Loss of the fresh and dry weight shoots and root of tomato has been reported in salinity conditions, which can be attributed to reduce plant growth due to the decrease in leaf area growth and thus the reduction of photosynthesis and the production of proteins. There is little research on the use of nanoparticles in plant growth and the use of nano-calcium has been used to reduce salinity stress for the first time, but the beneficial effects of some nano-materials on plants have been proven. With the use of titanium and nano-titanium in spinach, nano-titanium increases the fresh and dry weight of the plant relative to the use of titanium. In this study, the effects of calcium salinity stress were observed, but nano-calcium had less effects than calcium, and probably due to the fact that the concentrations of nano-calcium were used, using less concentrations in future research to achieve possible concentrations are suggested.

Conclusions: The use of nano-calcium to reduce salt stress was used for the first time in this experiment. The results of this experiment showed that the application of 150 mg calcium per liter on many tomato traits such as root and shoot fresh weight, root length shoots and root volume were effective under salinity stress, especially intense

1 and 2- Assistant Professor and Former B.SC Student, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan

(* - Corresponding Author Email: mhaghighi@cc.iut.ac.ir)

salinity (50 mM sodium chloride). The comparison of the effects of calcium and nano-calcium showed that the particle size reduction hadn't shown a significant effect on calcium salt modification and may be due to the concentrations of nano-calcium. Therefore, nanotechnology needs more research in the application of nano-calcium and other nano-materials. Ca also alleviated the hazardous effects of salinity but comparing Ca and nano-Ca showed that nano-Ca has not significant alleviating effect on salinity stress.

Keywords: Chlorophyll content, Membrane stability index, Relative water content, Root volume



تأثیر تنش آبی بر صفات فیزیومورفولوژیک و محتوای پرولین سه رقم گل اطلسی

مریم کمالی^۱ - محمود شور^{۲*} - سید حسین نعمتی^۳ - امیر لکزیان^۴ - حمیدرضا خزاعی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۷

چکیده

کمبود آب از تنش‌های مهم غیرزیستی است که رشد گیاه را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. به منظور بررسی اثر تنش آبی بر سه رقم گل اطلسی پرکاربرد در فضای سبز شهر مشهد آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار طراحی و اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ سطح آبیاری (۱۰۰ درصد (شاهد)، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و ۳ رقم اطلسی (Supercascade، Tango blue و Tango white) بود. نتایج نشان داد برهمکنش اثر رقم و سطوح آبیاری بر وزن خشک، سطح برگ، تعداد گل، قطر گل، طول جام گل، کلروفیل کل، نشت الکترولیت، محتوای رطوبت نسبی و میزان پرولین معنی‌دار بود. بیشترین وزن خشک ساقه (۱/۷۶ گرم) در شاهد تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و در رقم Tango White بود. ضمن اینکه بیشترین وزن خشک برگ (۲/۰۷ گرم) و وزن خشک ریشه (۰/۴۳ گرم) در رقم Tango Blue مشاهده شد. با افزایش تنش از ۱۰۰ درصد به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، سطح برگ در رقم Supercascade از ۳۱۴ به ۴۹، در رقم Tango Blue از ۴۰۵ به ۴۴ و در رقم Tango White از ۴۵۹ به ۶۹ سانتی متر مربع رسید. بعد از اعمال تنش ۸۰ درصد در رقم Supercascade ۲ درصد، در رقم Tango Blue ۱۰ درصد و در رقم Tango White ۳ درصد و بعد از اعمال تنش ۴۰ درصد در رقم Supercascade ۱۷ درصد، در رقم Tango Blue ۹ درصد و در رقم Tango White ۱۰ درصد نشت الکترولیت نسبت به شاهد افزایش یافت. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و رقم بر مقدار پرولین نیز نشان داد بیشترین مقدار پرولین در رقم Tango White و در تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و پس از آن در رقم Tango Blue و در تنش ۴۰ درصد تجمع یافته است. به طور کلی دو رقم Tango White و Tango Blue هم در شرایط شاهد آبیاری رشد بهتری داشتند و هم در شرایط کم آبیاری مقاوم تر بودند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تعداد گل، سطح ویژه برگ، کلروفیل کل، نشت الکترولیت

مقدمه

تنش خشکی بسیار شدیدتر شده است. به این ترتیب شناسایی واریته های گیاهی مقاوم به تنش خشکی یک ضرورت است. از طرفی ایجاد و احداث فضای سبز در بسیاری از کشورهای دنیا و به خصوص کشورهای توسعه یافته بر اساس پتانسیل های محل و از جمله آب، هوا و خاک صورت می‌پذیرد. کاهش نزولات، کمبود آب و هزینه های بالای نگهداری یکی از معضلات اساسی در احداث فضای سبز هر منطقه متناسب با تمام شرایط میکروکلیمائی آن منطقه و با توجه به مقاومت گیاهان نسبت به عوامل نامساعد تصمیم گیری می‌شود (۲۲). بررسی مکانیسم هایی که گیاهان را قادر می‌سازد تا با تنش خشکی سازش پیدا کنند و رشدشان را تحت آن شرایط حفظ نمایند، در نهایت می‌تواند در انتخاب گیاهان مقاوم به تنش برای کشت در مناطق خشک و نیمه خشک کمک کند. عکس العمل گیاهان مختلف و حتی ارقام مختلف از یک گیاه نسبت به تنش خشکی متفاوت است (۲۶). هارد اولین کسی بود که تهیه ارقام متحمل به خشکی در شرایط تنش آبی مصنوعی را به روش انتخاب، مطرح نمود و انتخاب محیط

خشکی یکی از مهم ترین تنش های محیطی است که مراحل مختلف رشد و نمو گیاه مانند مرحله جوانه زنی، استقرار گیاهچه و تولید محصول را در سرتاسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. نواحی تحت تنش به نواحی گفته می‌شود که میزان بارندگی سالیانه آن ها کمتر از ۵۰۰ میلی متر باشد (۱۹). ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی متر جزء این نواحی می‌باشد. در سال های اخیر، به علت تغییرات در شرایط آب و هوایی و نیز افزایش سطح دی اکسید کربن اتمسفری،

۱ و ۲ - به ترتیب دانش آموخته دکتری باغبانی، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*) نویسنده مسئول: (Email: shoor@um.ac.ir)

۴ - استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۵ - استاد گروه زراعت و اصلاح و نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

با نام علمی *Petunia hybrida* گیاهی یکساله و یا چندساله از خانواده Solanaceae می‌باشد. این گیاه به سرما حساس بوده و گونه اصلی آن بومی آرژانتین است. گل اطلسی به رنگ‌های سفید، قرمز، بنفش، صورتی، زرد، آبی و ابلق دیده می‌شود (۷). علی‌رغم استفاده وسیع از گل اطلسی در فضای سبز شهری، پژوهش‌های اندکی در ارتباط با مقایسه ارقام مختلف گل اطلسی صورت گرفته است. بنابراین آزمایش فوق با هدف مقایسه ویژگی‌های رشدی سه رقم پرکاربرد اطلسی در فضای سبز شهری و بررسی مقاومت به تنش خشکی (کم آبیاری) این سه رقم طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در پاییز و زمستان ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با میانگین دمای روزانه ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵٪ و شدت نور ۳۵ کیلو لوکس و به صورت فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی و اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۴ سطح تنش خشکی (۱۰۰) (سطح بدون تنش و شاهد)، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و سه رقم گل اطلسی بود. بذر گل اطلسی (*Petunia spp.*) هیبرید F1 از شرکت فضای سبزسان تهران تأمین شد. بذر سه رقم گل اطلسی به شرح ذیل بود: اطلسی گلبهی *Petunia hybrida* var Salmon Supercascade از شرکت PanAmerican آمریکا با ۹۱ درصد جوانه‌زنی، اطلسی بنفش تیره کم پر *Petunia grandiflora* F1 var Tango blue از شرکت Hemgenetics هلند با ۸۹ درصد جوانه‌زنی، اطلسی سفید *Petunia grandiflora* F1 var Tango white از شرکت Hemgenetics هلند با ۸۶ درصد جوانه‌زنی. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

آزمایش متناسب با اقلیم منطقه تنش را شرط نهایی موفقیت در آزمایش دانست (۸). درصد ماده خشک، محتوای نسبی آب برگ، تنظیم اسمزی و دمای گیاه از جمله صفات فیزیولوژیکی اند که می‌توانند تا حدود زیادی به عنوان شاخص‌هایی برای شناسایی ارقام مقاوم به تنش به کار گرفته شوند. کاهش محتوای نسبی آب برگ، بسته شدن روزنه‌ها را تحریک می‌کند و به دنبال بسته شدن روزنه‌ها سرعت فتوسنتز نیز کاهش می‌یابد. بنابراین هرچه محتوای نسبی آب برگ در یک رقم در شرایط خشکی بیشتر باشد مقاومت آن نیز بیشتر خواهد بود (۱۷). تجمع پرولین در بافت‌های گیاهی که آب از دست داده اند اولین بار در سال ۱۹۵۴ گزارش شد (۱۷). افزایش غلظت این اسید آمینه که به تنظیم اسمزی کمک می‌کند، ناشی از چند عامل گزارش شده است از جمله: ممانعت از تجزیه پرولین، جلوگیری از ورود پرولین به پروتئین و یا افزایش تجزیه پروتئین که ممکن است با کاهش رشد همراه باشد (۱۰). نتایج آزمایشات نشان داده‌اند که تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول درجهت تنظیم اسمزی در صورتی روی می‌دهد که پتانسیل آب بیش از یک مگاپاسکال کاهش یابد (۱۰). شمس و همکاران (۱۳۸۹) با مطالعه سه رقم اطلسی گزارش کردند تنش ۵۰ درصد باعث کاهش معنی‌دار تعداد شاخه اصلی، تعداد شاخه‌ی فرعی، تعداد گل و قطر گل در هر سه رقم گردید (۲۳). در تحقیقات بر روی شمعدانی و گل حنا نیز تنش آبی، تفاوت معنی‌داری در ارتفاع گیاه با تغییر سطوح محتوای آب خاک ایجاد نکرد و فقط در تنش شدید نسبت به حالت متوسط، ارتفاع در گل حنا کمی کاهش یافت (۶). رزمجو و همکاران (۱۳۸۳) گزارش کردند که تنش خشکی در اطلسی ایرانی، رعنا زیبا و شمعدانی منجر به کاهش ارتفاع گیاه گردید ولی این کاهش ارتفاع معنی‌دار نبود (۲۰). تقلیل آب مصرفی در گیاه همیشه بهار منجر به کاهش اندازه و تاج پوش گیاه گردید (۱۸). یکی از گل‌های رایج در فضای باز اطلسی می‌باشد. گل اطلسی

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1- Physico-chemical properties of the used soil

EC (ds/m)	pH	N (%)	Organic matter (%)	Lime (%)	Mg (ppm)	Ca (ppm)	K (ppm)	Na (ppm)	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
0.98	7.0	0.049	3.41	9	1.5	3.2	0.59	1.2	24.8	25.4	49.8

یادداشت شد. بعد از ثابت شدن منحنی آب با توزین گلدان‌ها میزان آب در ظرفیت زراعی مشخص و با وزن شدن روزانه گلدان‌ها بر اساس کمبود آب نسبت به سطح مربوطه میزان آب آبیاری تعیین شد. بذرها در سینی‌های کشت حاوی مخلوط کوکوپیت و پیت ماس با نسبت ۱:۱ کشت شدند. بعد از طی چهار هفته و در مرحله ۴ برگی نشاهای فوق به گلدان‌های دو کیلویی حاوی خاک مزرعه، ماسه، کود

برای تعیین میزان آب مورد نیاز هر گلدان در هر بار آبیاری در ابتدای آزمایش ظرفیت زراعی خاک مورد نظر مشخص گردید. جهت انجام این کار پنج گلدان با وزن و اندازه یکسان انتخاب و درون تمام آن‌ها به میزان مساوی از خاک تهیه شده برای آزمایش پر شد و به اندازه کافی با آب اشباع گردید. گلدان‌ها در زیر نایلون قرار گرفت تا آب فقط از طریق ثقلی خارج گشته و هر هشت ساعت یکبار وزن آنها

به خوبی سائیده و سپس با عبور دادن از صافی، عصاره حاصل را در لوله آزمایش ریخته و در مخلوط آب و یخ نگهداری گردید. در مرحله بعد ۲ میلی لیتر از معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال (خالص) به هر یک از لوله های محتوی عصاره و یا استاندارد افزوده شد. لوله ها به مدت یک ساعت در حمام آب جوش (بن ماری) در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و سپس به منظور خنک شدن به داخل مخلوط آب و یخ منتقل شدند. در این مرحله و در زیر هود ۶ میلی لیتر تولوئن به هر یک از لوله های آزمایش افزوده و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه شدیداً تکان داده شدند. در این حالت دو فاز تشکیل می شود. بنابراین ۱ میلی لیتر از فاز بالایی که محتوی پرولین بوده و طیف رنگی از صورتی تا بنفش را شامل بود، برداشته و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر میزان جذب نور قرائت شد (۴). تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C صورت گرفت و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن خشک برگ، ساقه، ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی (R/S): تجزیه واریانس مربوط به صفات وزن خشک ریشه، ساقه، برگ و همچنین نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی نشان داد بین رقم های مختلف کشت شده، سطوح مختلف تنش خشکی و همچنین بر همکنش دو تیمار مورد بررسی (رقم و تنش خشکی) اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۲). با کاهش میزان آب آبیاری، وزن خشک اجزا گیاه کم شد به طوری که با کاهش میزان آب ظرفیت زراعی از ۱۰۰ درصد به ۴۰ درصد به ترتیب ۷۷، ۵۶ و ۶۳ درصد کاهش وزن خشک برگ، ساقه و ریشه مشاهده شد (جدول ۳). این در حالی است که در ظرفیت زراعی ۴۰ درصد نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی ۵۰ درصد نسبت به شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) افزایش یافت. این نتایج با نتایج زاده باقری و همکاران (۱۳۹۳) بر گل اطلسی رقم 'دیورد' مبنی بر کاهش وزن شاخساره و ریشه در تنش ۷۵ درصد و ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مطابقت دارد (۲۸). در بین سه رقم اطلسی مورد بررسی، بیشترین وزن خشک ساقه در رقم Tango White و بیشترین وزن خشک ریشه در رقم Tango Blue مشاهده شد. ضمن اینکه وزن خشک برگ در هر دو رقم Tango White و Tango Blue نسبت به Supercascade مقادیر بیشتری داشتند (جدول ۳). بررسی برهمکنش تیمار رقم و تنش خشکی نشان داد بیشترین وزن خشک ساقه (۱/۷۶ گرم) در شاهد تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و در رقم Tango White بود. ضمن اینکه بیشترین وزن خشک برگ (۲/۰۷

دامی و خاکبرگ به نسبت حجمی ۱:۵:۰/۵:۰/۵ منتقل شدند. دو هفته پس از کشت، بعد از استقرار کامل نشا در گلدان، تیمارهای تنش خشکی بر سه رقم گل اطلسی اعمال شد. به این ترتیب گیاهان جمعا به مدت ۴۰ روز تحت تیمار کم آبی قرار گرفتند. طی دوره گلدهی تعداد گل های کاملاً شکوفا شمارش شده، قطر گل، طول دمگل و طول جام گل با کولیس دیجیتال اندازه گیری شد و بعد از برداشت به منظور تعیین وزن خشک، گل های برداشت شده در آون ۷۲ درجه خشک و با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ توزین شد. به منظور تعیین میزان پایداری غشای سلولی از شاخص نشت الکترولیت استفاده شد. در این روش ابتدا قطعاتی برگ با اندازه ۲ سانتی متر تهیه شد. این قطعات پس از شست و شو همراه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در لوله های آزمایش قرار گرفتند. سپس لوله ها به مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت به وسیله شیکر تکان داده شدند. در این مرحله هدایت الکتریکی اولیه (EC1) بوسیله دستگاه هدایت سنج (EC متر)، اندازه گیری شد. سپس لوله های آزمایش به اتوکلاو با درجه حرارت ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شدند. و بدین طریق هدایت الکتریکی ثانویه (EC2) نیز پس از سرد شدن محتویات داخل لوله های آزمایش انجام گرفت. در نهایت مقادیر نشت الکترولیت از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

$$El (\%) = (EC1/EC2) \times 100$$

تعیین میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید با نمونه گیری تصادفی از برگ های بالغ مطابق روش لیچنتالر و همکاران (۱۲) بود. بدین منظور ابتدا با استفاده از استون، عصاره گیری انجام و نهایتاً میزان جذب نور در طول موج های ۶۶۳، ۶۵۴ و ۴۷۰ قرائت شد.

$$CHLa = 12.5A_{663} - 2.79A_{645} \quad (۱)$$

$$CHLb = 21.51A_{645} - 5.1A_{663} \quad (۲)$$

$$CHLt = CHLa + CHLb \quad (۳)$$

$$Car. = ((1000A_{470}) - (1.8CHLa) - (85.02CHLb)) / 198 \quad (۴)$$

محتوای رطوبت نسبی آب برگ نیز در برگ های کاملاً توسعه یافته بعد از مشاهده علایم تنش مطابق با رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC (\%) = (FW - Dw) / (Tw - Dw) \times 100$$

FW، DW و TW به ترتیب نشانگر وزن تر، خشک و آماس نمونه های برگ می باشد. در پایان آزمایش یعنی بعد از مشاهده علایم تنش در فاز زایشی صفات مورفولوژیک شامل ارتفاع گیاه، تعداد برگ و سطح برگ اندازه گیری شد. سپس نمونه ها جهت اندازه گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی (ساقه، برگ و گل) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به آون منتقل شدند.

سطح ویژه برگی (SLA) از رابطه مقابل در زمان معین تعیین شد:

$$(\text{وزن ماده خشک برگ} / \text{سطح برگ در گیاه}) = \text{سطح ویژه برگی}$$

جهت اندازه گیری میزان پرولین ۰/۱ گرم برگ خشک شده را در هاون چینی همراه با ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳/۳٪ ابتدا

گرم) و وزن خشک ریشه (۰/۴۳ گرم) در رقم Tango Blue مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش سطح تنش خشکی از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۴۰ درصد وزن خشک کل در رقم Supercascade ۵۴ درصد، در رقم Tango Blue ۷۸ درصد و در رقم Tango White ۸۶ درصد کاهش یافت. همچنین بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی در رقم Tango Blue و در تنش شدید ۴۰٪ ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۴ و ۳). کاهش زیست توده تولیدی در طی افزایش سطح تنش خشکی می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش تعداد گل، شاخه جانبی در بوته، کاهش سطح برگ تولیدی و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد (۹). یکی از اولین نشانه‌های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول‌ها خصوصاً در ساقه و برگ‌ها است که با کاهش رشد سلول، اندازه اندام محدود می‌شود و به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم آبی بر گیاهان را می‌توان از روی اندازه کوچکتر و تعداد کمتر برگ‌ها تشخیص داد. به علاوه در شرایط کم آبی، جذب مواد و عناصر غذایی نیز کاهش یافته و در نتیجه رشد و توسعه برگ‌ها محدود می‌گردد. متعاقب کاهش سطح برگ، جذب نور نیز کاهش یافته و ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و بدیهی است که با محدود شدن فرآورده‌های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و نهایتاً عملکرد آن دچار

نقصان می‌شود (۱). منطبق با نتایج این پژوهش، کاهش مقدار آب آبیاری از ۱۰۰٪ به ۵۰٪ ظرفیت زراعی منجر به کاهش وزن خشک ریشه، برگ و ساقه در اطلسی ایرانی شد (۹).

ارتفاع، تعداد برگ، سطح برگ، سطح ویژه برگ: بررسی نتایج آزمایش نشان داد اثرات ساده رقم و خشکی و همچنین برهمکنش دو تیمار مورد آزمایش در تمام سطوح مورد بررسی در صفات تعداد برگ، سطح برگ و سطح ویژه برگ معنی‌دار بود. اثر ساده رقم و برهمکنش تیمار رقم با تنش خشکی در هیچ یک از سطوح اندازه‌گیری بر ارتفاع کل اطلسی معنی‌دار نشد، ضمن اینکه تیمار تنش خشکی اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه در سطح احتمال ۱ درصد داشت. مقایسه میانگین اعداد مربوط به صفت ارتفاع نشان داد با افزایش تدریجی تنش خشکی ارتفاع گیاه کاهش یافت و از ۱۱/۵۴ سانتی‌متر در شاهد تنش به ۱۳/۴۲ سانتی‌متر در ۸۰ درصد ظرفیت زراعی رسید. ارتفاع گیاه در ۴۰ درصد ظرفیت زراعی ۷ سانتی‌متر بود (جدول ۴ و ۷). کاهش مقدار آب آبیاری تعداد برگ و سطح ویژه برگ را کم کرد. در سطح بهینه آبیاری (عدم اعمال تنش) سطح برگ ۳۹۲ سانتی‌متر مربع بود و بعد از کاهش مقدار آب آبیاری در ۴۰٪ ظرفیت زراعی به ۵۴ سانتی‌متر مربع رسید. در بین ارقام اطلسی مورد مطالعه دو رقم Tango Blue و Tango White تعداد برگ بیشتری داشتند.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده (میانگین مربعات) در گل اطلسی
Table 2- ANOVA for morphological traits (Mean of squares) measured in Petunia

درجه آزادی df	منابع تغییر source of variations	طول جام گل length of flower cup	قطر گل Flower diameter	وزن خشک گل Flower dry weight	تعداد گل Flower number	سطح ویژه برگ Specific leaf area	سطح برگ Leaf area	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع Height	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Root/ Shoot	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight
2	رقم Variety	60.16**	120.45*	0.50**	210.33**	775293.87**	29255.36**	1149.69**	1.46ns	0.01**	0.024*	0.49**	1.714**
3	تنش خشکی Drought stress	70.28**	232.27**	1.62**	437.36**	176164.75**	193774.58**	1628.33**	121.66**	0.0004*	0.076**	0.78**	2.117**
6	رقم×تنش خشکی Variety × Drought stress	31.35**	88.48*	0.32**	85.88*	182019.76**	6794.19**	119.91*	8.76ns	0.01**	0.026**	0.42**	0.327**
24	خطا Error	7.32	39.78	0.07	12.02	11064.6	655.21	51.44	7.28	0.001	0.005	0.04	0.067
	ضریب تغییرات CV (%)	10.43	11.02	59.54	46.76	30.30	11.04	24.22	23.11	29.84	31.55	28.13	29.52

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

*, ** and ns significant at the 0.05 and 0.01 level of probability, no significant, respectively

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی و رقم بر برخی صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در گل اطلسی

Table 3- Effects of drought stress and variety on some morphological traits measured in Petunia

تیمار Treatment	رقم Variety	طول جام گل Length of flower cup (mm)	قطر گل Flower diameter (mm)	وزن خشک گل Flower dry weight (g/plant)	تعداد گل Flower number	سطح ویژه برگ Specific leaf area	سطح برگ Leaf area (cm ²)	تعداد برگ Leaf number	ارتفاع height	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Shoot Root/ Root dry weight (g/plant)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g/plant)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g/plant)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g/plant)
	Supercascade	23.58b	55.33b	0.39b	4.91b	205.07b	185.57c	18.75b	11.54a	0.14a	0.203b	0.55b	0.45b
	Tango Blue	28.04a	60.88a	0.30b	5.08b	195.81b	226.25b	32.33a	12.07a	0.14a	0.267a	0.67b	1.19b
	Tango White	26.18a	55.44b	0.69a	12.25a	640.62a	283.83a	37.75a	11.41a	0.08b	0.181b	0.94a	0.97a
	LSD Value	2.28	5.17	0.22	2.92	88.63	21.57	6.04	2.27	0.02	4.73	0.16	0.21
تنش خشکی Drought stress	100% FC	29.57a	64.19a	1.01a	16.77a	522.93a	392.46a	39.66a	15.67a	0.10b	0.324a	1.10a	1.44a
	80%FC	24.50bc	56.20b	0.53b	8.33b	258.27b	299.62b	36.77ab	13.42a	0.10b	0.257b	0.81b	1.06b
	60% FC	26.52b	56.48b	0.26c	3.77c	325.33b	181.56c	32.00b	10.38b	0.13ab	0.167c	0.50c	0.65c
	40%FC	23.14c	52.00b	0.02c	0.77c	182.15c	53.88d	10.00c	7.22c	0.15a	0.119c	0.48c	0.33d
	LSD Value	2.6	5.98	0.25	3.37	102.3	24.90	6.97	2.62	0.03	5.46	0.19	0.25

میانگین‌هایی که در هر ستون و برای هر عامل دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند.
Mean that in every column with the same letters are not statistically different according LSD test

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی × رقم بر برخی صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در گل اطلسی

Table 4- Comparison of interaction effects of drought stress × Variety on some morphological traits measured in Petunia

تنش خشکی Drought stress(%FC)	رقم Variety	طول جام گل Length of flower cup (mm)	قطر گل Flower diameter (mm)	وزن خشک گل Flower dry weight (g/plant)	تعداد گل Flower number	سطح ویژه برگ Specific leaf area	سطح برگ/گیاه Leaf area (cm ²)	تعداد برگ/گیاه Leaf number	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی Root /Shoot	وزن خشک ریشه Root dry weight (g/plant)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g/plant)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g/plant)
100	Supercascade	27.79ab	63.70ab	0.81b	12.00bc	212.61d	313.72c	27.66cd	0.17b	0.380ab	0.62cde	0.73cd
80	Supercascade	26.67bc	53.53bcd	0.52bc	4.33de	146.84d	198.00de	20.00de	0.08de	0.114h	0.42ef	0.33d
60	Supercascade	22.58cd	56.98abcd	0.20cd	2.33e	262.47d	181.28de	18.33def	0.18b	0.180e	0.31ef	0.45cd
40	Supercascade	17.29e	47.13d	0.03d	1.00e	198.38d	49.28f	9.00ef	0.12cd	0.138g	0.83bcd	0.30d
100	Tango Blue	32.04a	62.13abc	0.51bc	9.00cd	205.20d	405.00b	40.33ab	0.09de	0.330abc	0.91bc	2.07a
80	Tango Blue	25.37bcd	66.83a	0.26cd	5.66de	211.23d	298.75c	44.66ab	0.16bc	0.437a	0.97b	1.52b
60	Tango Blue	27.63ab	59.88abc	0.39bcd	4.66de	251.59d	157.50e	37.33bc	0.08de	0.138g	0.55def	0.79c
40	Tango Blue	27.13bc	54.66bcd	0.04d	1.00e	115.23d	43.75f	7.00f	0.24a	0.161f	0.25f	0.38cd
100	Tango White	28.90ab	66.74a	1.72a	29.33a	657.00b	458.68a	51.00a	0.05e	0.262c	1.76a	1.53b
80	Tango White	21.47de	48.24d	0.83b	15.00b	1210.72a	402.13b	45.66ab	0.06e	0.220cd	1.03b	1.34b
60	Tango White	29.36ab	52.58cd	0.20cd	4.33de	461.93c	205.90d	40.33ab	0.12cd	0.183e	0.63cde	0.71cd
40	Tango White	25.01bcd	54.22bcd	0.01d	0.33e	232.85d	68.63f	14.00ef	0.09de	0.057i	0.35ef	0.31d
	LSD Value	4.55	10.36	0.44	5.84	177.3	43.14	12.09	0.05	9.46	0.33	0.43

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند.
Mean that in every column with the same letters are not statistically different according LSD test

سطح برگ در سه رقم Tango Blue, Supercascade و Tango White به ترتیب ۱۸۵، ۲۲۶ و ۲۸۳ سانتی‌متر مربع بود. ضمن اینکه سطح برگ ویژه در رقم Tango White نسبت به سایر ارقام بیشتر بود (جدول ۳). در تنش ۴۰ درصد ارتفاع گیاه در ارقام Tango Blue, Supercascade و Tango Withe به ترتیب ۹، ۷ و ۱۴ سانتی‌متر بود. با افزایش تنش از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی سطح برگ در رقم Supercascade از ۳۱۴ به ۴۹، در رقم Tango Blue از ۴۰۵ به ۴۴ و در رقم Tango White از ۴۵۹ به ۶۹ سانتی‌متر مربع رسید. بیشترین سطح ویژه برگ در رقم Tango White و در تنش ۸۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (جدول ۴). اختلاف ارتفاع در اغلب گیاهان ناشی از خصوصیات ژنتیکی و تغییر شرایط محیطی است و از آنجا که تقسیم و افزایش اندازه سلول به تنش خشکی بسیار حساس است لذا به نظر می‌رسد که در تیمارهای تحت تنش آبی، افزایش اندازه سلول تحت تأثیر قرار گرفته و با ممانعت از رشد طولی ساقه، سبب کاهش ارتفاع گیاه گردید. طبیعتاً در شرایط تنش خشکی گیاه با کاهش تعداد و کوچکتر کردن برگ، سطح فتوسنتز کننده خود را کاهش می‌دهد و متعاقب کاهش سطح برگ، ظرفیت فتوسنتزی گیاه کاهش می‌یابد و این رویداد باعث تلفات بیشتر برگ و کاهش سطح فتوسنتز کننده می‌گردد (۲). مطالعات احمدیان و همکاران بر گل بابونه (۱) نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، صفات قطر ساقه و طبق افزایش و تعداد گل، تعداد شاخه جانبی در گیاه و ارتفاع بوته کاهش معنی‌داری یافت.

وزن خشک گل، تعداد گل، قطر گل، طول جام گل: طبق
نتایج جدول ۳ مقایسه میانگین مربعات مربوط به صفات تعداد گل اطلسی، وزن خشک گل و طول جام گل نشان داد اثرات ساده رقم و تنش خشکی و همچنین برهمکنش دو تیمار در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. در صفت قطر گل نیز عامل رقم و برهمکنش رقم و خشکی در سطح احتمال خطای ۵ درصد و اثر ساده خشکی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. با کاهش ظرفیت زراعی از ۱۰۰ درصد به ۸۰ درصد، گلدهی اطلسی ۵۰ درصد کاهش یافت. در ۶۰ درصد ظرفیت زراعی تعداد گل ۵۴ درصد نسبت به سطح ۸۰ درصد کم شد. وزن خشک گل از ۱/۰۱ گرم در هر بوته در شرایط شاهد به ۰/۲ گرم در شدیدترین تنش خشکی اعمال شده رسید. قطر گل و طول جام در شاهد تنش به ترتیب ۶۴ و ۲۶ میلی‌متر بود و بعد از اعمال تنش خشکی به طور معنی‌دار کاهش یافت. مقایسه بین میانگین تعداد گل در بین سه رقم نشان داد ارقام Tango White, Supercascade و Tango Blue به ترتیب تعداد گل بیشتری داشتند (جدول ۳). رقم Tango White ۲/۴ برابر ارقام Supercascade و Tango Blue گلدهی داشت. بر این اساس وزن خشک گل در رقم Tango White با میانگین ۰/۶۹ گرم در هر بوته نسبت به دو رقم دیگر بیشتر بود.

قطر گل در رقم Tango Blue با میانگین ۶۰/۵۸ میلی‌متر بیشتر از دو رقم دیگر و کمترین طول جام گل در رقم Supercascade با میانگین ۲۳/۵۸ میلی‌متر مشاهده شد. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و رقم بر تعداد گل نشان داد رقم Tango White در شرایط عدم اعمال تنش با ۲۹ گل در هر بوته تعداد گل بیشتری و با میانگین وزن ۱/۷۲ گرم وزن خشک گل بیشتری داشته است (جدول ۴). قطر گل و طول جام گل در هر سه رقم با کاهش مقدار آب کاهش یافت. بر این اساس با کاهش آب از سطح شاهد تا ۴۰ درصد ظرفیت زراعی در سه رقم Tango Blue, Supercascade و Tango White قطر گل به ترتیب ۲۶، ۱۲ و ۱۸ درصد و طول جام گل به ترتیب ۳۸، ۱۶ و ۱۳ درصد کم شد. کاهش زیست توده تولیدی و عملکرد گل در طی افزایش سطح تنش خشکی براساس نظر اسریوالی و همکاران (۲۴) می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش تعداد گل و شاخه جانبی در بوته، کاهش سطح برگ تولیدی و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد. مطالعات شمس و همکاران (۲۳)، بر سه رقم اطلسی نیز نشان داد که تنش خشکی ۵۰ درصد، کاهش معنی‌داری در تعداد گل و قطر گل در همه ارقام مورد مطالعه داشته است (۲۳). کمالی و گلدانی (۹) گزارش کردند با افزایش تنش از ۱۰۰ درصد به ۲۵ درصد ظرفیت زراعی میانگین تعداد گل در اطلسی ایرانی از ۱۶/۴۱ به ۲/۱۶ رسید. مطالعات بر روی اطلسی ایرانی نشان داد وزن خشک ده گل در تنش خشکی ۵۰٪ ظرفیت زراعی ۴۴ درصد نسبت به شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) کاهش داشت (۹). همچنین تنش خشکی در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی عملکرد گل در بابونه را نسبت به شاهد کاهش داد (۱).

کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید: براساس
نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس (جدول ۵) اثرات ساده و متقابل تیمار رقم و تیمار خشکی بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود ($p \leq 0.01$) در بین سه رقم مورد بررسی Supercascade کلروفیل a بیشتر و کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید کمتری داشت. نتایج نشان داد با افزایش تدریجی تنش، مقادیر کلروفیل b، کل و کارتنوئید به تدریج کم و مجدد افزایش داشته است. به این ترتیب کلروفیل کل در شاهد تنش (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) ۲۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود، در تنش ۸۰ درصد و ۶۰ درصد به ترتیب به ۱۴/۶ و ۱۳ میلی‌گرم کاهش یافت و در تنش شدید ۴۰ درصد به ۱۷/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید. به همین ترتیب مقدار کارتنوئید در شاهد تنش با ۶/۷ میلی‌گرم بیشترین مقدار بود و در تنش ۶۰ درصد به کمترین مقدار (۱/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) رسید (جدول ۶). بنظر می‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل در تنش ملایم ۸۰ درصد و تنش

کلروفیل a در رقم Supercascade در خشکی ۶۰ و ۴۰ درصد به میزان ۹/۵ و ۸/۲ و بعد از آن در رقم Tango Blue در تنش ۴۰ درصد به میزان ۷/۷ میلی گرم بر گرم وزن تر بود. رقم Tango Blue با میانگین ۲۵ میلی گرم و رقم Tango White با میانگین ۲۴/۴ میلی گرم به طور معنی دار نسبت به سایر تیمارها کلروفیل کل بیشتری داشتند. این نتایج با نتایج مربوط به کارتنوئید مشابه بود و بیشترین مقادیر کارتنوئید در دو رقم Tango Blue و Tango White در شرایط بدون تنش (شاهد) مشاهده شد (جدول ۷).

متوسط ۶۰ درصد بواسطه اثر کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (۱۰). ضمن اینکه این احتمال وجود دارد که خشکی در تنش شدید ۴۰ درصد با کاهش سطح برگ، باعث تجمع کلروفیل در سطح کم تر برگ ها و بنابراین افزایش غلظت آن شده باشد. موحدی دهنوی و همکاران (۱۶) نیز افزایش میزان کلروفیل در اثر تنش خشکی در گلرنگ را تأیید کردند. در سیب زمینی نیز افزایش فاصله بین دوره های آبیاری باعث افزایش محتوای کلروفیل شد (۱۱). برهمکنش رقم و خشکی نشان داد بیشترین مقدار

جدول ۵- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه گیری شده در گل اطلسی

Table 5- Analysis of variance mean square physiological and biochemical measurements in Petunia

منابع تغییر Source of variations	درجه آزادی df	پروکلین Proline	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	محتوای رطوبت نسبی Relative water content	کارتنوئید Carotenoids	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a
رقم Variety	2	0.05**	20.397**	788.89**	22.61**	74.43**	144.07**	11.406**
تنش خشکی Drought stress	3	0.17**	1093.84**	651.22**	38.49**	88.97**	138.83**	19.684**
رقم × تنش خشکی Varieties × Drought stress	6	0.007**	31.17*	43.97*	5.26**	55.76**	22.93**	18.467**
خطا Error		0.002	10.00	24.49	0.979	3.86	6.12	2.437
ضریب تغییرات (CV %)		4.80	5.92	9.47	25.54	12.01	22.55	28.92

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال خطای ۱ و ۵ درصد و ns بیانگر عدم اختلاف معنی دار می باشد

*, ** and ns significant at the 0.05 and 0.01 level of probability, no significant, respectively

جدول ۶- مقایسه میانگین اثرات ساده تنش خشکی و رقم بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه گیری شده در گل اطلسی

Table 6- The simple effects of Varieties and drought stress on physiological and biochemical measurements in Petunia

تیمار Treatment	پروکلین Proline (mg/gfw)	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	محتوای رطوبت نسبی Relative water content (%)	کارتنوئید Carotenoids (mg/gfw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/gfw)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/gfw)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/gfw)
رقم Variety							
Supercascade	0.84c	49.95b	42.91b	2.34b	13.60b	7.10b	6.49a
Tango Blue	0.93b	57.99a	56.75a	4.28a	17.08a	12.a	5.07b
Tango White	0.98a	52.38b	57.13a	4.99a	18.42a	13.80a	4.62b
LSD Value	0.03	2.66	4.17	0.83	1.65	2.08	1.31
تنش خشکی Drought stress							
100% FC	0.76d	43.34	62.13a	6.78a	20.13a	16.56a	3.57c
80%FC	0.86c	48.02	53.72b	3.43b	14.63c	9.39bc	5.24b
60% FC	0.98b	53.71b	51.83b	1.89c	13.07c	7.47c	5.59b
40%FC	1.07a	68.71a	41.42c	3.37b	17.62b	10.45b	7.17a
LSD Value	0.04	3.07	4.81	0.96	1.91	2.40	1.51

میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی داری ندارند.

Mean that in every column with the same letters are not statistically different according LSD test

محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت و مقدار پرولین:

اثرات ساده رقم و تنش خشکی بر محتوای رطوبت نسبی (RWC)، نشت الکترولیت (EL) و مقدار پرولین موجود در برگ معنی‌دار بود. همچنین برهمکنش رقم و خشکی بر صفات محتوای رطوبت نسبی در سطح ۵ درصد و در نشت الکترولیت و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). در بین سه رقم مورد آزمایش محتوای رطوبت نسبی در دو رقم Tango White و Tango Blue، نشت الکترولیت در رقم Tango Blue و مقدار پرولین در رقم Tango White بیشتر بود (جدول ۶). با افزایش تنش خشکی از ۱۰۰ درصد به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی درصد محتوای رطوبت نسبی اطلسی از ۶۲ درصد به ۴۱ درصد کاهش یافت. با افزایش شدت خشکی میزان نشت الکترولیت به تدریج افزایش یافت و در شدیدترین تنش خشکی اعمال شده برابر ۶۸/۷ درصد بود. مقدار پرولین در تنش ۴۰ درصد برابر ۱/۰۷ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بود. با اعمال تنش خشکی از شاهد تا سطح ۸۰ درصد سه رقم Supercascade، Tango Blue و Tango White به ترتیب ۱۳، ۶ و ۱۲ درصد و با اعمال تنش خشکی از شاهد تا سطح ۶۰ درصد به ترتیب ۱۸، ۱۷ و ۱۴ درصد کاهش محتوای رطوبت نسبی داشتند. محتوای رطوبت نسبی برگ یکی از بهترین شاخص‌ها در تشخیص تعادل بین آب تأمین شده برای برگ و سرعت تعرق است، لذا به عنوان شاخصی مهم در انتخاب گیاهان مقاوم به خشکی در نظر گرفته می‌شود. محتوای رطوبت نسبی برگ بالاتر به این معناست که در شرایط تنش خشکی برگ قادر است آب بیشتری را حفظ و ریشه نیز می‌تواند آب بیش‌تری را جذب کند (۴). گزارش‌ها نشان می‌دهد که آسیب به غشا تحت تنش‌های خشکی با افزایش در میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن مرتبط است و بنابراین، ثبات غشاهای زیستی دال بر مقاومت به تنش خشکی است. تنش خشکی در ۷۰ و ۵۵ درصد ظرفیت زراعی موجب کاهش صفات فیزیولوژیکی، از جمله هدایت روزنه‌ای، نرخ تعرق، فتوسنتز، کارایی فتوسنتز، پتانسیل آب برگ و میزان نسبی آب برگ در گل مکزیکی گردید (۱۶). در شرایط عدم اعمال تنش خشکی نشت الکترولیت در سه رقم Tango White، Tango Blue، Supercascade و Tango White به ترتیب ۳/۳۷، ۵/۴۸ و ۱/۴۴ درصد بود. بعد از اعمال تنش ۸۰ درصد در رقم Supercascade ۶/۱۷٪، در رقم Tango Blue ۴/۷٪ و در رقم Tango White ۸/۶٪ درصد و بعد از اعمال تنش ۴۰ درصد در رقم Supercascade ۷۰٪ درصد، در رقم Tango Blue ۵۷٪ و در رقم Tango White ۴/۵۰٪ درصد نشت الکترولیت نسبت به شاهد افزایش یافت. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و رقم بر مقدار پرولین نیز نشان داد بیشترین مقدار پرولین در رقم Tango White و در تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و پس از آن در رقم

Tango Blue و در تنش ۴۰ درصد تجمع یافته است. منطبق با نتایج فوق تجمع پرولین طی تنش خشکی در پژوهش‌های متعدد گزارش شده است (۲۱، ۲۵ و ۲۷). پرولین از جمله موادی است که در پاسخ به تنش خشکی غلظت آن در سلول افزایش می‌یابد و در نتیجه باعث حرکت آب سلول‌های برگ و افزایش فشار تورگر می‌شود (۱۴). انباشت پرولین در شرایط تنش ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌ها باشد (۱۳). اثر سطوح مختلف کم آبیاری بر میزان پرولین نشان داد که با کاهش میزان آبیاری میزان پرولین در اطلسی رقم 'دیو رد' افزایش یافت. به طوری که بیش‌ترین میزان مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه ای و کم‌ترین میزان مربوط به تیمار ۱۰۰ درصد بود (۲۸).

نتیجه‌گیری

کاهش مقدار آب آبیاری منجر به کاهش تمام صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده شامل وزن خشک ریشه، ساقه، برگ و گل، سطح برگ، تعداد برگ، تعداد گل، قطر گل و طول جام گل شد. بیشترین وزن خشک ساقه در شاهد تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و در رقم Tango White بود. ضمن اینکه بیشترین وزن خشک برگ و وزن خشک ریشه در رقم Tango Blue مشاهده شد. با افزایش تنش از ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ۴۰ درصد ظرفیت زراعی سطح برگ در رقم Supercascade نسبت به دو رقم دیگر کمتر و نشت الکترولیت بیشتر بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و رقم بر مقدار پرولین نیز نشان داد بیشترین مقدار پرولین در رقم Tango White و در تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و پس از آن در رقم Tango Blue و در تنش ۴۰ درصد تجمع یافته است. به طور کلی دو رقم Tango Blue و Tango White هم در شرایط شاهد آبیاری رشد بهتری داشتند و هم در شرایط کم آبیاری مقاوم‌تر بودند.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی و رقم بر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در گل اطلسی
Table 7- Interaction effects of variety and drought stress on physiological and biochemical traits measured in *Petunia*

رقم	پرولین	نشست الکترولیت	محتوای رطوبت نسبی	کارتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a
Variety	Proline (mg/gfw)	Electrolyte leakage (%)	Relative water content (%)	Carotenoids (mg/gfw)	Total chlorophyll (mg/gfw)	Chlorophyll b (mg/gfw)	Chlorophyll a (mg/gfw)
Supercascade 100	0.68i	37.34f	54.74cd	3.35c	12d	9.16bcd	3.84de
Supercascade 80	0.72hi	43.91e	47.59de	2.81c	14.07cd	7.69d	6.38bc
Supercascade 60	0.93de	55.09c	44.44e	0.53d	12.98d	3.48e	9.50a
Supercascade 40	1.04bc	63.49b	27.90f	2.66c	16.33bc	8.09cd	8.24ab
Tango Blue 100	0.82fg	48.56de	66.00ab	8.54a	25.01a	21.44a	3.56de
Tango Blue 80	0.87ef	52.20cd	61.92b	2.36c	10.92d	7.40de	3.51de
Tango Blue 60	0.97cd	54.96c	54.39cd	2.47c	13.65cd	8.14cd	5.51cd
Tango Blue 40	1.07ab	76.26a	44.57e	3.74bc	18.74b	11.03bcd	7.71abc
Tango White 100	0.78gh	44.12e	66.64a	8.46a	24.40a	19.09a	5.31cd
Tango White 80	0.97cd	47.95de	58.66bc	5.12b	18.90b	13.07b	5.83bcd
Tango White 60	1.04bc	51.10cd	56.65c	2.69c	12.58d	10.81bcd	1.77e
Tango White 40	1.12a	66.37b	51.81cde	3.71bc	17.81b	12.23bc	5.57cd
LSD Value	0.07	5.33	8.33	1.66	3.31	4.16	2.62

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند

Mean that in every column with the same letters are not statistically different according to LSD test

منابع

- Ahmadian A., Ghanbari V., and Siah Sar B. 2011. Effect of drought stress and use of organic and minerals fertilizers on remnants of the yield of German chamomile, *Journal of Agricultural Ecology*, 3(3): 383-395.
- Ashraf M., and Foolad M.R. 2007. Roles of glycine, betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216.
- Ashraf M.Y., Azmi A.R., Khan A.H., and Ala S.A. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiologiae Plantarum*, 16(3): 185-191.
- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free Pro for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-217.
- Blum A., and Ebercon A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Crop Science*, 21: 43-47.
- Chylinski K.W., Lukaszewska A., and Kutnik K. 2007. Drought response of two bedding plants. *Acta Physiology Plant*, 29: 399-406.
- Ghahraman A. 1994. *Plant Systematics. Volume III*. Tehran. Press center of academic publishing. 306 p.
- Jensen N.F. 1988. *Plant Breeding Methodology*. Cornell University. New York. John Wiley, Pp: 379-380.
- Kamali M., and Goldani M. 2016. Impact of manure treatments, compost and vermicompost on growth and flowering of *Petunia hybrida* in drought stress. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, in press
- Kao C.H. 1981. Senescence of rice leaves. VI. Comparative study of the metabolic changes of senescing turgid and water-stressed excised leaves. *Plant and Cell Physiology*, 22: 683-685.
- Khosravi-Far S., Yarnia M., Khorshidi Benam M.B., and Hossein-Zade Moghbeli A.H. 2008. Effect of potassium on drought tolerance in potato variety Agria. In: *Proc 10th Ir. Agron and Plants Breed Cong*, 358p.
- Lichtenthaler H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymol*, 148: 350-382.
- Maggio A., Miyazaki S., Veronese P., Fujita T., Ibeas J.I., Damsz B., Narasimhan M.L., Hasegawa P.M., Joly R.J. and Bressan R.A. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction? *Plant Journal*, 31(6): 699-712.
- Mahajan S., and Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stress: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.

- 15- Mandal K., Saravanan R., and Maiti S. 2008. Effect of different levels of N, P and K on downy mildew (*Peronospora plantaginis*) and seed yield of *Plantago ovata*. Crop Protection, 27(6): 988-995.
- 16- Movahhedi Dehnavi M., Modarres Sanavi A.M., Soroush-Zade A., and Jalali M. 2004. Changes of proline, total soluble sugars, chlorophyll (SPAD) content and chlorophyll fluorescence in safflower varieties under drought stress and foliar application of zinc and manganese. Biaban, 9(1): 93-110.
- 17- Pessarkli M. 1999. Hand book of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. 697 Pages.
- 18- Rahmani N., Aliabadi Farahani H., and Valadabadi S.A.R. 2008. Effects of nitrogen on oil yield and its component of calendula (*Calendula officinalis* L.) in drought stress conditions. Abstracts Book of the world Congress on Medicinal and Aromatic Plants, South Africa p.364.
- 19- Rajaram S., Van Ginkel M., and Fischer R.A. 1994. CIMMYT's wheat breeding mega-environments (ME). Proceeding of the 8th International Wheat Genetics Symposium, pp.1101-1106. China Agricultural Sciencetech, Beijing, China.
- 20- Razmju J., Shariatmadari N., Khajedin J., Landi A., Namazi Y., Borhani M., and Aslani H. 2004. Effect of environmental stresses on plants of landscape and optimal conditions selected plants. Order of the Municipal Department of Parks and green spaces. Isfahan University of Technology.
- 21- Selahvarzi Y., Tehrani far A., and Gezanchian A. 2008. Physiomorphological changes under drought stress and rewatering in endemic and exotic turfgrasses. Journal of Horticultural Science and Technology, 9(3): 193-204.
- 22- Shaban M., Khaje A.A.A., Karim Zade H., Panah Pour A. 2009. Study on Drought Resistance of woody species suitable for green space development. Research in Agricultural Sciences, 1: 57-67.
- 23- Shams J., Etemdi N., Najafi P., and Rezaii A. 2010. Effect of drought stress on morphological characteristics of three varieties of petunias. Fifth National Conference on New Ideas in Agriculture.
- 24- Sreevalli Y., Baskaran K., Chandrashekara R., kuikkarni R., SuShil Hasan S., Samresh D., Kukre J., Ashok A., Sharmar Singh K., Srikant S., and Rakesh T. 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science, 22: 356-358.
- 25- Turkan I., Bor M., Ozdemir F., and Koca H. 2005. Differential response of lipid peroxidation and antioxidant in the leaves of drought tolerance (*P. acutifolius* Gray) and drought sensitive (*P. vulgaris* L.) subjected to polyethyleneglycol mediated water stress. Plant Science, 168: 223-231.
- 26- Vieira R.D., Teerony D.M., and Egli D.B. 1991. Effect of drought stress on soybean seed germination and vigor. Journal Seed Technology, 16: 12-21.
- 27- Wang F., Zeng B., Sun Z., and Zhu C. 2009. Relationship between proline and Hg+2-induced oxidative stress in tolerant rice mutant. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 56(4): 723-731.
- 28- Zade Bagheri M., Al buali F., Sadeghi H., and Javanmardi Sh. 2014. The effect of irrigation on ionic changes, relative water content, proline content and appearance of Petunia. Journal of Horticultural Science (Agricultural Science and Technology), 28(3): 347-359.



Effect of Drought Stress on Physio-morphological Characteristics and Proline Content of Three Varieties of Petunia

M. Kamali²- M. Shoor^{2*}- S.H. Neamati³- A. Lakzian⁴- H.R. Khazaei⁵

Received: 03-09-2016

Accepted: 07-01-2018

Introduction: Water deficiency is one of important abiotic stresses that severely effects on plant growth. The effects of drought range from morphological to molecular levels and are evident at all phenological stages of plant growth at whatever stage the water deficit takes place. Growth is accomplished through cell division, cell enlargement and differentiation, and involves genetic, physiological, ecological and morphological events and their complex interactions. The quality and quantity of plant growth depend on these events, which are affected by water deficit. Cell growth is one of the most drought-sensitive physiological processes due to the reduction in turgor pressure. Under severe water deficiency, cell elongation of higher plants can be inhibited by interruption of water flow from the xylem to the surrounding elongating cells. Impaired mitosis, cell elongation and expansion result in reduced plant height, leaf area and crop growth under drought. Chlorophyll content is one of the major factors affecting photosynthetic capacity changing in chlorophyll content of plant under drought stress has been observed in different plant species and its intensity depends on stress rate and duration. Chlorophyll content of leaf is indicator of photosynthetic capability of plant tissues. In the mid-80s, RWC was introduced as a best criterion for plant water status which, afterwards was used instead of plant water potential as RWC referring to its relation with cell volume, accurately can indicate the balance between absorbed water by plant and consumed through transpiration.

Materials and Methods: To study the effects of drought stress on three varieties of petunia, a factorial experiment based on randomized complete block design with four replications was conducted. The treatments consisted of four irrigation levels ((100% control), 80%, 60% and 40% of field capacity) and three varieties of petunia (Supercascade, Tango blue and Tango white). After planting and transplanting and after full deployment in the pot, water stress treatments were applied on three varieties of petunias. At the end of each week fully blossomed flowers were counted, flower diameter, peduncle length and corolla length were measured. In order to determine the stability of the cell membrane electrolyte leakage index was measured. Specific leaf area (SLA) was determined. The amount of chlorophyll a, b, total and carotenoid and relative water content in the leaves were measured. Statistical analysis was performed using the software MSTAT-C. EXCEL was used for diagramming software. Means were compared using LSD test with a 0.05 significance level.

Results and Discussion: Results indicated that interaction impacts of variety and irrigation on dry weight, leaf area, flower number, flower diameter, length Corolla, chlorophyll content, electrolyte leakage, relative water content and proline content was significant. The most shoot dry weight (76/1 g) was in control stress (100% FC) and Tango White variety. Also the most leaf dry weight (07/2 g) and root dry weight (g 43/0) were in Tango Blue variety. With increasing drought stress from 100% FC to 40% FC, leaf area decreased in Supercascade from 314 to 49, in Tango Blue from 405 to 44 and in Tango White from 459 to 69 cm². In 80% FC, electrolyte leakage increased in all varieties (Supercascade variety 2%, Tango Blue 10% and in Tango White 3%) compared to control. Also electrolyte leakage increased in Supercascade 17%, in Tango Blue 9% and in Tango White 10% in 40% FC compared to control. Comparison of interaction effects of drought stress and variety also showed the most proline had accumulated in Tango White and drought 40% of field capacity and then in Tango Blue and stress 40% of field capacity. Generally two varieties of Tango Blue and Tango White in control irrigation had better growth and also in low irrigation were more resistant.

Keywords: Chlorophyll, Electrolyte leakage, Flower number, Proline, Specific leaf area

1, 2 and 3- Ph.D. Graduate, Associate Professor and Assistant Professor, Horticulture Department, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, Respectively

4- Professor of Soil Science Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

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

5- Professor Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran



بهبود کیفیت و تسريع رسيدن ميوه خرما رقم کبکاب با استفاده از پوشش‌های رنگی و موقعیت خوشه

اله کرم رستمی^۱ - مجید راحمی^{۲*} - محمود ایزدی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۲۸

چکیده

ميوه خرما با ارزش غذایی بسیار بالا در سید غذایی مردم جایگاه ویژه‌ای دارد. رقم کبکاب، خرماي غالب استان بوشهر بوده و دارای طعم و مزه بسیار خوبی هست. این پژوهش در دو سال متوالی در ایستگاه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری استان بوشهر باهدف تسريع رسيدن ميوه و بهبود کیفیت آن با ایجاد یک میکرو کليما در اطراف خوشه، بدون استفاده از مواد شیمیایی انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با تیمارهای شامل پوشش‌های کنفی مشبک در شش رنگ سبز، سفید، زرد، آبی، طوسی و شاهد با چهار تکرار بر روی خوشه‌های جنوب و شمال درخت اعمال شد. نتایج آزمایش نشان داد پوشش‌ها اثر معنی‌داری روی فاکتورهای ظاهری و شیمیایی ندارند. ولی تیمارها به‌طور معنی‌داری سرعت رسيدن ميوه را افزایش دادند و بیش‌ترین سرعت رسيدن ميوه مربوط به رنگ طوسی که سبب شد ميوه هفت روز زودتر برداشت شود.

واژه‌های کلیدی: پوشش رنگی، خرما، سرعت رسيدن ميوه و کیفیت

مقدمه

نخل خرما در فرهنگ عمومی به درخت خرما معروف است و سابقه کشت آن در ایران به چند هزار سال می‌رسد. طوری‌که گفته شده پادشاهان ساسانی و هخامنشی در تمام ادوار مشوق کشت و توسعه آن بوده‌اند (۱۸). خرما به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا به‌ویژه از نظر مواد قندی، همچنین استفاده در عملیات صنعتی و نیز ویژگی‌های خاص مانند مقاومت به خشکی و کم‌آبی، مورد توجه انسان قرار گرفته است. نخل یکی از قدیمی‌ترین درختان میوه بوده که تقریباً ۵۰۰۰ سال پیش در شمال آفریقا و خاورمیانه کشت شده است (۶). خرما یکی از محصولات اصلی باغبانی در مناطق گرمسیری ایران بوده و نقش عمده‌ای در صادرات غیرنفتی دارد. بر اساس آمار فائو ایران رتبه ۳ در تولید، رتبه ۱ سطح زیر کشت و رتبه ۵ عملکرد را به خود اختصاص داده است (۷). در بین ارقام متنوعی که در ایران کشت می‌شود رقم کبکاب یکی از ارقام ویژه با طعم و مزه بسیار خوب و رقم

غالب در استان بوشهر می‌باشد.

درختان میوه از جمله خرما دارای مراحل فنولوژیکی مختلفی می‌باشند. یکی از این مراحل رسيدن و سرعت رسيدن ميوه می‌باشد که تحت تأثیر عوامل درونی و بیرونی بسیاری قرار دارد و پژوهش گران زیادی با استفاده از روش‌های مختلف شیمیایی و فیزیکی در جهت بهبود کیفیت و سرعت رسيدن ميوه تلاش کرده‌اند. رسيدن در ارتباط با تغییرات ترکیبات میوه مثل تبدیل نشاسته به قند و به دست آوردن مزه مطلوب، رنگ و کیفیت خوراکی می‌باشد. محصول خرما در مراحل مختلف توسعه شامل خلال، رطب و تمار مصرف می‌شود (۲۲).

به‌طور کلی فرآیند فیزیولوژیکی رسيدن در درختان میوه هم به‌صورت ژنتیکی و هم توسط عوامل محیطی و هم عملیات داشت کنترل می‌شود (۲۱). یکی از عوامل طبیعی نور می‌باشد که بسیاری از فرآیندهای دیگر همچون فتوسنتز، گلدهی، عملکرد و رنگ میوه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پژوهش‌ها در مورد سبب نشان می‌دهد که با افزایش دریافت کل نور، عملکرد سبب در واحد سطح افزایش می‌یابد و نیز در مورد رنگ، میوه‌های با حداقل رنگ و کوچک در سایه‌دارترین بخش درخت قرار داشتند (۲۰). در پژوهشی جهت بررسی اثر نور در ميوه توت‌فرنگی از پوشش‌های پلاستیکی با قدرت

۱ و ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه شیراز
(*)- نویسنده مسئول: (Email:rahemi@shirazu.ac.ir)

۳- بخش علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز
DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.61897

مواد و روش‌ها

این پژوهش در ایستگاه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری استان بوشهر واقع در شهر سعدآباد انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تیمار شامل کیسه‌هایی به ابعاد ۱۲۰ × ۷۰ سانتی‌متر در ۵ رنگ سبز، زرد، سفید، طوسی و آبی و شاهد در ۴ تکرار روی درختان کبکاب ۲۰ ساله انجام شد (شکل ۱، a) و تمامی درختان با یک رقم گرده دهنده در زمان مناسب به صورت کنترل شده گرده‌افشانی شدند (بعد از باز نمودن اسپات و گرده‌افشانی خوشه‌ها توسط پاکت به مدت ۳ هفته پوشانده شدند) (شکل ۱، b). در اواخر مرحله حبابوک در هر تکرار دو خوشه در دو جهت شمال و جنوب درخت، انتخاب و کیسه‌گذاری شدند (شکل ۱، c). بعد از این مرحله جهت بررسی تغییرات سرعت رسیدن میوه، هر خوشه ۲۵ خوشه چه در چند جهت خوشه انتخاب و تغییرات به فاصله ۷ روز تا زمان برداشت مورد بررسی قرار گرفتند.

برای بررسی عملکرد تیمارها وزن کل خوشه (خارک، رطب، خرما و خوشچه‌ها) و وزن خوشه (میوه بدون خوشچه) در زمان برداشت اندازه‌گیری شدند. همچنین درصد وزنی میوه‌های کاملاً رسیده با وزن کردن میزان خارک در مرحله برداشت محاسبه شد.

جهت بررسی درصد خشکیدگی میوه‌ها در زمان برداشت از هر خوشه دو کیلوگرم وزن گردید و درصد وزنی میوه‌های خشک مورد محاسبه قرار گرفت.

جهت اندازه‌گیری TSS، یک گرم از بافت میوه را در هاون چینی با آب مقطر صاف نموده و از دستگاه قندسنج مدل Atago Atc-1e ساخت ژاپن استفاده شد (۱۷). برای اندازه‌گیری اسید کل نیز از ۱۰ میوه ۱ گرم بافت میوه با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شده سپس با سود یک دهم نرمال در حضور معرف فنل فتالین و تغییر رنگ عصاره میزان اسید از طریق فرمول زیر محاسبه شد.

$$TA(\%) = \frac{V \times N \times Meqwt}{y \times 1000} \times 100$$

V = میزان سود مصرفی برحسب میلی‌لیتر

N = نرمالیت سود مصرفی

Meqwt = میلی‌اکی والان اسید غالب

Y = میلی‌لیتر حجم عصاره نمونه

برای اندازه‌گیری pH ابتدا از ۱۰ میوه ۱ گرم بافت میوه با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر همگن شده سپس با دستگاه pH متر میزان pH قرائت شد. اندازه‌گیری وزن هسته و میوه، طول، قطر میوه و وزن گوشت در مرحله تمار، روی ۱۰ میوه در هر خوشه انجام و سپس میانگین ۱۰ میوه به عنوان عدد مربوط به ویژگی مربوطه ثبت شد.

انتقال UV متفاوت استفاده شد و نتایج نشان داد پوششی که میزان بیشتری نور UV را عبور دهد به طور معنی‌داری میانگین وزن میوه و تعداد میوه و میزان فنل‌ها و رنگ‌دانه‌های آنتوسیانین و فلاوونوئیدها را افزایش ولی عملکرد کل را بدون تفاوت معنی‌دار افزایش می‌دهد (۲۴). دما عامل محیطی دیگری می‌باشد که رشد و نمو و رسیدن میوه خرما را تحت تأثیر قرار می‌دهد. خرما آب‌وهوای گرم و خشک، گرمای زیاد و نور فراوان را می‌پسندد و در مراحل رسیدن به دمای بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نیاز دارد (۱۸). بر اساس میزان حرارت روزانه بیش از ۱۸ درجه سانتی‌گراد از زمان تلقیح تا رسیدن، واحد گرمایی اکثر ارقام خرما ۱۸۰۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۱۳). رسیدن میوه تحت تأثیر اقلیم و فاکتورهای محیطی می‌باشد. هرچند روابط شیمیایی و فعل‌وانفعالات درونی نیز این پروسه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و پژوهش‌گران در موارد گوناگونی مواد شیمیایی را برای تسریع رسیدن و به طور کلی کیفیت میوه به‌ویژه خرما به کار برده‌اند. ولی امروزه با توجه به اهمیت تولید محصولات سالم و ارگانیک استفاده از پوشش‌های مختلف جهت بهبود کیفیت محصولات باغبانی اهمیت به سزایی دارد تا آنجایی که در برخی موارد آن را یک فن جدید در باغبانی قلمداد می‌کنند.

کیسه‌گذاری در طی توسعه میوه سبب کاهش خسارات فیزیکی، بیماری‌ها و بهبود رنگ‌گیری میوه در تعدادی از درختان می‌شود (۴ و ۵). در چندین کشور آسیایی برای جلوگیری از مگس میوه، آن را در روزنامه می‌پیچانند (۱۲). ایلچ و همکاران (۹) اثر سه نوع پوشش بر عملکرد گوجه فرنگی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که تیمار پوشش عملکرد را در گوجه فرنگی به صورت معنی‌داری افزایش داد.

ایجاد یک میکروکلیم اطراف میوه با استفاده از پوشش جهت بهبود کیفیت و جلوگیری از ایجاد خسارت توسط پژوهشگران بسیاری انجام گرفته است. نیکسون و کارپنتر (۱۶) هیچ‌گونه خسارتی روی خوشه‌های دارای پوشش مشاهده نکردند. نتایج پژوهشی دیگر در رابطه با اثر پوشش‌های رنگی بر بهبود کیفیت و کمیت میوه موز نشان می‌دهد که پوشش‌های آبی‌رنگ در موز سبب بهبود فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی می‌گردد ولی در ماه‌های گرم سبب آفتاب‌سوختگی در میوه‌ها می‌شود (۱۴).

استفاده از کیسه‌های کاغذی، تشکیل میوه، اندازه میوه و عملکرد درخت خرما را افزایش داده است (۲۳). استفاده از تورهای ماهیگیری روی رقم حلاوی در عراق باعث افزایش عملکرد و تشکیل میوه شده است (۸). با توجه به منابع بررسی‌شده و اثرات مثبتی که پوشش خوشه در مراحل مختلف رشد و نمو داشته این پژوهش نیز باهدف بهبود کیفیت، کمیت و تسریع رسیدن میوه خرما کبکاب صورت گرفته است.



شکل ۱- پوشش‌های رنگی استفاده شده در آزمایش (a)، گرده‌افشانی کنترل‌شده (b) و طریقه کیسه‌گذاری خوشه‌ها (c)
Figure 1- Bag colors used in experiment (a), controlled pollination (b), and bunch bagging (c)

اندازه میوه از پوشش‌ها را گزارش کردند. همچنین آکوبنداس و همکاران (۲) دریافتند که موقعیت جغرافیایی میوه هلو روی درخت اثری بر وزن گوشت، وزن میوه، قطر میوه، نسبت گوشت به هسته و وزن خشک میوه ندارد. ژئی و همکاران (۲۷) گزارش کردند اثر پوشش میوه در پرتقال بر اندازه و ضخامت پوست میوه معنی‌دار نمی‌باشد.

عملکرد و شاخص‌های شیمیایی

جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) در رابطه با فاکتورهای شیمیایی و شاخص‌های عملکرد نشان می‌دهد اثر تیمار رنگ کیسه روی عملکرد و فاکتورهای شیمیایی معنی‌دار نیست ولی جهت خوشه اثر معنی‌داری روی درصد TSS و وزن میوه دارد. نتایج مقایسه میانگین در جدول ۴ بیان می‌کند میوه‌ها در جهت شمال با وزن ۸/۴۷۰ کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با میوه‌های جهت جنوب دارند میوه‌ها در جهت شمال چون قادر به حفظ رطوبت بیشتری بودند در نتیجه وزن بیشتری نیز داشتند. جدول ۵ نشان می‌دهد میوه‌ها در جهت جنوب با ۷۱/۸۵ درصد میزان TSS بیشتری نسبت به میوه‌های جهت شمال دارد. تیاس و همکاران (۲۵) اثر کیسه‌گذاری را روی خوشه‌های لیچی مورد بررسی قرار دادند و گزارش‌های آن‌ها با نتایج این پژوهش هم‌سو

آنالیز داده‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت و جهت بررسی اختلاف میانگین داده‌ها پس از انجام تجزیه واریانس از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد و همچنین کارهای آماری و آنالیز از طریق دو نرم‌افزار Excel2010 و SAS9.0 انجام شد.

لازم به بیان است در مواردی که برهمکنش سال و تیمار معنی‌دار بود داده‌های مربوط به دو سال به صورت جداگانه در جداول آمده است.

نتایج و بحث

ویژگی‌های ظاهری

با بررسی جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص گردید تیمارهای رنگ کیسه و جهت اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های ظاهری میوه (طول، وزن، قطر و نسبت طول و قطر میوه) ندارد برهمکنش‌ها نیز در همه موارد معنی‌دار نیستند و جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان می‌دهد تفاوت بین تیمارها و شاهد بسیار ناچیز می‌باشد. آواد (۱) گزارش کرد کیسه‌های رنگی روی ویژگی‌های ظاهری میوه رقم هلالی اثر معنی‌داری ندارد. ژیا و همکاران (۱۰) عدم تأثیرپذیری

است. آن‌ها گزارش کردند میوه‌ها در جهات شمال شرقی و شمال غربی بیش‌ترین میزان و جهت جنوب غربی و جنوب شرقی کم‌ترین میزان تولید میوه را داشتند. همچنین گزارش کردند که اثر کیسه بر عملکرد اثر معنی‌داری ندارد. باسیل و همکاران (۳) در بررسی اثر چهار توری رنگی در رنگ‌های سفید، قرمز، آبی و طوسی بر روی میوه‌های کیوی رقم هاپوارد به این نتیجه رسیدند که تعداد میوه در هر تاک به‌صورت معنی‌داری در تیمار شاهد از تیمارهای با پوشش توری رنگی بیشتر بود. کیم و همکاران (۱۲) افزایش اسید قابل تیتراسیون به‌وسیله پوشش‌های زردرنگ با میزان نفوذ کم‌نور را گزارش کردند. آلکوبنداس و همکاران (۲) در بررسی روی درختان هلو نتایجی همسو با نتایج ما به دست آوردند. آن‌ها گزارش کردند در چهار جهت جغرافیایی میزان اختلاف اسیدهای تارتاریک، سیتریک و مالیک و قندهای گلوکز و سوربیتول و غلظت مواد جامد محلول معنی‌دار نبود. همچنین در قندهای فروکتوز و ساکارز اختلاف آن‌ها معنی‌دار بود به‌طوری‌که فروکتوز در جنوب و ساکارز در شمال بیش‌ترین میزان را داشتند.

جدول ۴ نشان می‌دهد پوشش آبی به صورت معنی‌داری میزان

خشکیدگی را در خوشه‌ها کاهش داد همچنین در پوشش طوسی میزان خشکیدگی به طور معنی‌دار افزایش یافت. میزان خشکیدگی همچنین در جهت جنوب افزایش معنی‌داری نسبت به جهت شمال داشت. با توجه به افزایش توده گرمایی در پوشش‌های طوسی به علت رنگ تیره عارضه افزایش یافته است. رنگ آبی بعلاوه جذب پرتوهای UV در کاهش عارضه مؤثر بود. پژمان و همکاران (۲۰) گزارش کرد پوشش‌ها به ویژه جنس حصیر با افزایش رطوبت در فضای پوشش و کاهش شدت نور و دما باعث کاهش شدت عارضه می‌شود. به طور کلی عوامل محیطی دما و رطوبت نسبی در خسارت خشکیدگی نقش عمده‌ای دارند. در این پژوهش نیز در سال دوم هیچ گونه عارضه‌ای مشاهده نشد که داده‌های هواشناسی نشان می‌داد در سال دوم رطوبت نسبی ۸ درصد نسبت به سال اول افزایش داشت و دما یک واحد کمتر بود و احتمالاً به همین دلیل در سال دوم عارضه مشاهده نشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر رنگ کیسه و موقعیت خوشه روی برخی صفات میوه خرمای رقم کبکاب
Table 1- Analysis of variance for effect Bag color and Bunch Direction on some properties

میانگین مربعات Mean squares					
منابع تغییرات (S.o.v)	درجه آزادی (df)	قطر میوه Diameter of fruit	قطر / طول Length/Diameter	وزن میوه Weight of fruit	طول میوه Length of fruit
تکرار Replication	1	0.00144676 ^{ns}	0.00387600 ^{ns}	3.8060563 [*]	0.03960333 ^{ns}
تیمار Treatment	5	0.03474028 ^{ns}	0.01746721 ^{ns}	2.1172720 ^{ns}	0.01953417 ^{ns}
سال Year	1	0.07820417 ^{ns}	0.28209306 ^{ns}	21.4858680 ^{ns}	3.31526667 ^{ns}
جهت Direction	1	0.01027824 ^{ns}	0.00018942 ^{ns}	0.0545465 ^{ns}	0.00201667 ^{ns}
تیمار×جهت Direction×Treatment	5	0.02755046 ^{ns}	0.004086997 ^{ns}	0.6624961 ^{ns}	0.00944917 ^{ns}
سال×تیمار Year×Treatment	5	0.003294861 ^{ns}	0.006949117 ^{ns}	1.1303851 ^{ns}	0.01068417 ^{ns}
خطا Error	77	0.03048431	0.01012869	0.9920561	0.02050791
ضریب تغییرات (%) cv	–	7.336675	6.3232	8.932413	3.792695

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار

*, significant at 5 % of probability level and ns, non_significant

جدول ۲- اثر پوشش‌های رنگی بر ویژگی‌های ظاهری میوه خرما رقم کبکاب
Table 2- Effect of Treatments on Fruit appearance characteristics on Fruit date C.V. KABKAB

تیمار Treatment	طول میوه Length of fruit (mm)	قطر میوه Diameter of fruit (mm)	قطر / طول میوه Length / Diameter	وزن میوه Weight of fruit (g)
سبز Green	38.1875 ^a	23.6563 ^{ab}	1616.1471 ^a	11.558 ^a
سفید White	37.5563 ^a	23.521 ^{ab}	15.9669 ^{ab}	10.583 ^b
زرد Yellow	37.1785 ^a	24.5729 ^a	15.3478 ^b	10.906 ^{ab}
آبی Blue	37.8313 ^a	24.0625 ^{ab}	15.7522 ^{ab}	11.1488 ^{ab}
طوسی Gray	37.9785 ^a	23.7188 ^{ab}	16.015 ^{ab}	11.479 ^a
شاهد Control	37.8 ^a	23.225 ^b	16.2784 ^a	11.229 ^{ab}
جهت Direction				
شمال North	37.7125 ^a	23.6944 ^a	15.9303 ^a	11.1745 ^a
جنوب South	37.8042 ^a	23.9014 ^a	15.9022 ^a	11.1268 ^a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند

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

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رنگ کیسه و موقعیت خوشه روی برخی خصوصیات میوه خرما رقم کبکاب
Table 3- Analysis of variance for effect color bag and direction bunch on some properties on Fruit date C.V. KABKAB

میانگین مربعات (MS)						
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	اسیدیته pH	اسیدیته TA قابل تیتراسیون	مواد جامد محلول TSS (%)	درصد وزنی خارک Weight of khalal (%)	وزن میوه Weight of Fruit (kg)
تکرار Replication	1	0.00315 ^{ns}	0.00144 ^{ns}	82.502083 ^{ns}	5.8095148 ^{ns}	1.5470052 ^{ns}
تیمار Treatment	5	0.04195 ^{ns}	0.00300 ^{ns}	18.935417 ^{ns}	124.8952424 ^{ns}	5.6078848 ^{ns}
سال Year	1	6.36025 ^{ns}	00.0019 ^{ns}	9540.09375 ^{ns}	13.2084233 ^{ns}	102.67896 ^{ns}
جهت Direction	1	0.03263 ^{ns}	0.00015 ^{ns}	231.260417 [*]	7.6382880 ^{ns}	31.6442390 [*]
تیمار*جهت Direction*Treatment	5	.130431 ^{ns}	.006098 ^{ns}	46.435417 ^{ns}	92.5251851 [*]	.8057876 ^{ns}
سال*تیمار Year*Treatment	5	.1051785	.0017795 ^{ns}	27.918750 ^{ns}	.11659304 [*]	4.4548015 ^{ns}
خطا Error	77	0.05807684	0.00296758	26.05111	17.982969	3.1887517 ^{ns}
ضریب تغییرات (cv)%	-	3.766165	30.49001	7.260139	39.17862	22.61334

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار

*, significant at 5 percent level of probability and ns, non_significant

جدول ۴- بررسی اثر تیمارها بر شاخص‌های عملکرد میوه خرما رقم کبکاب
Table 4- Effect of Treatments on quality characteristic on Fruit date C.V. KABKAB

تیمار Treatment	وزن میوه Weight of fruit (kg)	درصد وزنی خارک Weight of khalal (%)	خشکیدگی میوه Fading disorder of fruit (%)
سبز Green	7.0531 ^b	9.2344 ^{cb}	3.135 ^{ab}
سفید White	8.8396 ^a	9.5567 ^{cb}	.820 ^{bc}
زرد Yellow	7.9615 ^{ab}	11.6480 ^b	3.1 ^{ab}
آبی Blue	7.6323 ^{ab}	8.5101 ^c	.06 ^c
طوسی Gray	7.7563 ^{ab}	9.8807 ^{cb}	5.129 ^a
شاهد Control	8.1375 ^{ab}	16.1131 ^a	1.689 ^{bc}
جهت Direction			
شمال North	8.4708 ^a	11.106 ^a	1.53 ^b
جنوب South	7.3226 ^b	10.542 ^a	3.11 ^a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند

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

جدول ۵- اثر پوشش‌های رنگی بر ویژگی‌های شیمیایی میوه خرما رقم کبکاب
Table 5- Effect of Treatments on the Chemical Properties of Fruit on Fruit date C.V. KABKAB

تیمار Treatment	اسیدیته pH	مواد جامد محلول TSS (%)	اسیدیته قابل تیتراسیون TA (%)
سبز Green	6.424 ^a	69.062 ^a	.166 ^a
سفید White	6.34 ^a	70.938 ^a	.169 ^a
زرد Yellow	6.415 ^a	71.75 ^a	.171 ^a
آبی Blue	6.456 ^a	70. ^a	.195 ^a
طوسی Gray	6.427 ^a	69.125 ^a	.174 ^a
شاهد Control	6.331 ^a	70.938 ^a	.197 ^a
جهت Direction			
شمال North	6.4173 ^a	68.7500 ^b	.17741 ^a
جنوب South	6.3804 ^a	71.8542 ^a	.17992 ^a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند

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

سرعت رسیدن میوه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) مربوط به سرعت رسیدن میوه نشان داد اختلاف رسیدن میوه‌ها در واحد زمان معنی‌دار است و اثر برهمکنش در همه موارد معنی‌دار نبود. در جدول ۷ مقایسه میانگین داده‌ها مربوط به سرعت رسیدن میوه را نشان می‌دهد که در هر دو سال آزمایش پوشش‌های بارنگ طوسی سبب افزایش رسیدن میوه شدند و اختلاف معنی‌دار یک‌هفته‌ای با تیمار شاهد داشتند و کمترین سرعت رسیدن میوه بین تیمارها مربوط به شاهد می‌باشد هم‌چنین

بیشترین میزان خارک در زمان برداشت در خوشه شاهد به دست آمد و از این فاکتور می‌توان نتیجه گرفت کیسه‌ها سبب یکنواختی رشد میوه نیز می‌شود. همچنین میوه‌هایی که در بخش جنوبی درخت قرار داشتند با سرعت معنی‌دار نسبت به خوشه جهت شمال به مرحله رسیدن و برداشت رسیدند. احتمالاً وجود دمای در کیسه‌ها و در سمت جنوب سبب افزایش سرعت تنفس و سرعت بخشی به حرکت میوه به سمت بلوغ می‌شود. کاسم و همکاران (۱۱) و آواد (۱) نتایجی همسو با نتایج ما گزارش کردند. آواد (۱) بیان داشت که پوشش کیسه

به‌ویژه رنگ آبی و سیاه احتمالاً انباشت گرمایی بیشتری نسبت به شاهد دارند در نتیجه این انباشت گرمایی، سرعت تنفس افزایش یافته و CO₂ تولید شده ناشی از آن سبب تولید استیل آلدهید و حذف گسی میوه می‌شود. آلکوبنداس و همکاران (۲) بیان کرد که فاکتور جهت ممکن است زودرسی و دیررسی ارقام گوناگون هلو را تحت تأثیر قرار بدهد.

جدول ۶- تجزیه واریانس مربوط به تیمار، جهت، سال
Table 6- Variance Analysis for Treatment, Direction, Year

میانگین مربعات (MS)								
منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	رسیدن مرحله خاړک سال اول Ripening of Khalal on first year	درجه آزادی (df)	رسیدن مرحله خاړک سال دوم Ripening of Khalal on second year	درجه آزادی (df)	رسیدن مرحله رطب سال اول Ripening of Khalal on first year	درجه آزادی	رسیدن رطب سال دوم
تکرار Replication	3	556.1459*	3	844.122*	3	389.4757*	3	* 819.4469
تیمار Treatment	5	1332.8263*	5	2321.7022*	5	1843.017*	5	2280.7453 *
جهت Direction	1	3.7405 ^{ns}	1	1266.7485*	1	46.3947 ^{ns}	1	5658.4710*
زمان Time	4	6605.4321*	4	4306.902*	8	53.5640*	7	39033.719*
تیمار*جهت Time*Direction	5	85.1369 ^{ns}	5	172.3073 ^{ns}	5	123.7340 ^{ns}	5	187.1108 ^{ns}
تیمار * زمان Time*Time	25	99.2107 ^{ns}	20	108.453 ^{ns}	40	71.6307 ^{ns}	25	157.8468 ^{ns}
تیمار * جهت * زمان Time*Direction*Time	30	10.8131 ^{ns}	24	45.6994 ^{ns}	48	31.5332 ^{ns}	30	33.6434 ^{ns}
خطا Error	238	169.3943	197	128.8136	361	104.4694	238	26.6388
ضریب تغییرات (cv)%	-	25.96231	-	21.05113	-	25.21215	-	29.33184

* معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار
*, significant at 5 percent level of probability and ns, non_significant

و زایشی باشد متفاوت است. اندازه‌گیری دما در کیسه در طی مراحل رشد انجام شد که نشان داد دما در پوشش‌ها بیشتر بوده و بین پوشش‌ها رنگ طوسی بیش‌ترین افزایش دما را داشته است (داده‌ها نمایش داده نشد).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد پوشش و جهت خوشه‌ها اثر معنی داری روی بهبود ویژگی‌های ظاهری میوه نداشتند ولی اثرات منفی نیز نداشتند. خصوصیات شیمیایی میوه به استثنای TSS که در جهت جنوب افزایش معنی دار داشت دیگر شاخص‌های تحت تأثیر جهت و نوع پوشش قرار نگرفتند. کمترین میزان عارضه خشکیدگی در رنگ آبی و در جهت شمال مشاهده شد. در وزن خوشه و وزن میوه جهت قرار گرفتن خوشه اثر معنی‌داری بر افزایش وزن داشت و پوشش

به‌طور کلی کیسه‌گذاری یک فن حفاظت فیزیکی است که عموماً برای حفاظت از میوه در برابر آفات و بیماری‌ها به کار می‌رود اما به دلیل تغییر در میکرو اقلیم میوه اثرات گوناگونی بر رشد و کیفیت میوه نیز دارد (۲۶ و ۱۳). همچنین یانگ و همکاران (۲۸) گزارش کردند کیسه‌ها باعث می‌شوند میکرو اقلیم کیسه‌ها که میوه در آن رشد می‌کند گرم‌تر باشد. پوشش سیاه‌رنگ گرم‌تر از بقیه پوشش‌ها بود که با بررسی‌های ما همسو می‌باشد.

لازم به ذکر است مغایرت نتایج ما با برخی از نتایج دیگر پژوهش‌ها احتمالاً به علت تفاوت در نوع کیسه شرایط آب و هوایی مختلف باشد و همچنین بررسی اثر پوشش‌های رنگی روی کیفیت میوه بسیار پیچیده است زیرا پوشش‌ها می‌توانند عوامل محیطی مانند دمای هوا، شدت و کیفیت نور تغییر دهند همچنین با توجه به این تغییرات پاسخ‌های فیزیولوژیک که گیاه در دومرحله رشد رویشی

سفید بیشترین وزن میوه را نشان داد. در افزایش سرعت رشد در هر دو سال و در هر دو مرحله خارک و رطب رنگ طوسی اثر افزایشی معنی داری داشت. اگر چه در سال دوم رنگ زرد بیشتر از رنگ طوسی بود ولی این تفاوت معنی دار نبود. از بین جهت خوشه ها نیز در جنوب میوه ها با سرعت بیشتری به مرحله رسیدن و برداشت می رسند. پوشش ها در جلوگیری از آفت کنه و آفتاب سوختگی اگر چه داده برداری نشد ولی اثرات کاهشی بر این دو عارضه داشتند.

جدول ۷- بررسی اثر تیمارها بر درصد سرعت رسیدن میوه در واحد زمان
Table 7- Effect of treatments on rate of fruit ripening % per unit of time

تیمار Treatment	خارک Kalal		رطب Rutab	
	سال اول First year	سال دوم Second year	سال اول First year	سال دوم Second year
Green سبز	48.821 ^{bc}	53.559 ^{bc}	37.320 ^{cd}	40.176 ^b
White سفید	52.022 ^b	47.813 ^{de}	41.522 ^b	32.244 ^c
Yellow زرد	48.466 ^{bc}	66.394 ^a	38.453 ^{bc}	45.902 ^a
Blue آبی	45.725 ^c	51.665 ^{cd}	40.985 ^b	37.899 ^b
Gray طوسی	59.970 ^a	58.520 ^b	49.711 ^a	45.233 ^a
Control شاهد	45.880 ^c	45.496 ^e	34.957 ^d	28.740 ^c
Direction جهت				
North شمال	50.231 ^a	51.617 ^b	40.161 ^a	36.961 ^b
South جنوب	50.001 ^a	56.212 ^a	40.821 ^a	39.771 ^a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($P < 0.05$) نمی باشند
Numbers followed by the same letters are not significantly different ($P < 0.05$)

منابع

- Awad M.A. 2007. Increasing the rate of ripening date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) cv. 'Helali' preharvest and postharvest treatments. Journal of Postharvest, Biology and Technology, 43(1): 121-127.
- Alcobendas R., Maris-Avalos J.M., Alarcon J.J., and Nicolas E. 2012. Effects of irrigation and fruit position on size, colour, firmness and sugar contents of fruits in a mid-late maturing peach cultivar. Scientia Horticulturae, Vol. 164: 340-347.
- Basile B., Giaccone M., Cirillo C., Ritieni A., Graziani G., Shahak Y., and Forlani M. 2012. Photo-selective hail nets affect fruit size and quality in Hayward kiwifruit. Scientia Horticulturae, Vol. 141: 91-97
- Bentley W.J., and Viveros M. 1992. Brown-bagging Granny Smith apples on trees stops codling moth damage. California Agriculture, 46: 30-32.
- Byers R.E., and Carbaugh D.H. 1995. Chemical, cultural, and physiological factors influencing 'Stayman' fruit cracking. Bull. Virginia Agriculture. Exp. Stn., 95:1-33.
- Chaio C.C., and Krueger R.R. 2007. The date palm (*Phoenix dactylifera* L.): overview of biology, uses, and cultivation. HortScienc, 42(5): 1077-1088.
- FAO (2010). Statistical Database; <http://faostat.fao.org>.
- Ghalib H.H., Essam A., Mowlod A., and Hamza H.H. 1988. The influence of bagging on fruit set and fruit characteristics in date palm cv. Hilawi. Date palm Journal, 6(1): 238-254.
- Ilic Z., Milenkovic L., Stanojevic L., Cvetkovic D., and Fallik E. 2012. Effects of the modification of light intensity by color shade nets on yield and quality of tomato fruits. Scientia Horticulturae, 139: 90-95
- Jia H.J., Araki A., and Okamoto G. 2005. Influence of fruit bagging on aroma volatiles and skin colouration of 'Hakuho' peach (*Prunus persica* Batsch). Postharvest Biology and Technology, 35: 61-68.

- 11- Kassem H.A., Omar A.K.H., and Ahmed M.A. 2011. Response of Zaghloul date palm productivity, ripening and quality to different polyethylene bagging treatments. *American-Eurasian Journal. Agriculture Environ Science*, 11 (5): 616-621
- 12- Kim Y.H., Kim S.K., Lim S.C., Lee C.H., Youn C.K., Kim H.H., and Choi K.S. 2000. Effects of bagging material on coloration, maturity, and quality of peach fruits. *Journal. Korean Soc. Horticulturae Science*, 41: 395-400
- 13- Li E.M., Shi D.C., Xu Y.H., Chen F., and Zhai H. 2008. Changing characteristics of temperature and humidity in different type bags for bagging apple and their effects on fruit appearance quality. *Chin. Journal. Appl. Ecol.*, 19: 208-212. (In Chinese with an English abstract)
- 14- Muchui M.N., Mathooko F.M., Njoroge C.K., Kahangi E.M., Onyango C.A., and Kimani E.M. 2010. Effect of perforated blue polyethylene bunch covers on selected postharvest quality parameters of tissue cultured bananas (*Musa spp.*) cv. Williams in Central Kenya, *Journal Stored Products and Postharvest Research*, 1 (3): 29- 41.
- 15- Munier P. 1973. *Le palmier- Dattir. G – P. Maisonneuve and larose, Paris*. pp 1-221.
- 16- Nixon R.W., and Carpenter J.B. 1987. *Growing dates in the United States*. U.S. Dept. Washington D.C. Agric Bull. 207. 6th edition.
- 17- Parvaneh V. 1992. *Chemical testing of food quality control*. Tehran University Press. pp332.
- 18- Pezhman H., and Eizadi M. 2006 The Effect of the type of covering bunch on fading disorder fruit (*Phoenix dactylifera* c.v. Kabkab). *Journal Scientific Agriculture*, 29(20).
- 19- Panahi KH. 2002. *Date palm*. Isfahan University of Technology press. P 1.
- 20- Rahemi M., and Tavallali V. 2011. *Concise Encyclopedia Temperate Tree Fruit*, Avand Andishe Press. pp 183-185.
- 21- Rahemi M. 2001. *Tree Fruit Physiology Growth Development*. Mashahd University Press. pp212.
- 22- Reuveni O. 1986. Date. In: *Handbook of fruit set and development*. (ed). Monselise, P.S. CRC Press, Boca Raton, FL. pp.112-230.
- 23- Stoler S. 1972. Date pollination and fertilization. II- Fertilization. *Hort. Abst.*, 42(2): 4905.
- 24- Tsormpatsidisa E., Ordidgea M., Henbestb R.G.C., Wagstaffea A., Batteya N.H., and Hadleya P. 2011. Harvesting fruit of equivalent chronological age and fruit position shows individual effects of UV radiation on aspects of the strawberry ripening process. *Environmental and Experimental Boanyt.*, 74: 178- 185.
- 25- Tyas J.A., Hofman P.J., Underhill S.J.R., and Bell K.L. 1998. Fruit canopy position and panicle bagging affects yield and quality of 'Tai So' lychee. *Scientia. Horticulturae*, 72: 203-213
- 26- Wang L., Xu K., Bei F., and Gao F.S. 2007. Effects of bagging on the microenvironment, yield and quality of over-wintering tomato. *Chin. Journal. Appl. Ecol.*, 18(4): 837-842 (In Chinese with an English abstract)
- 27- Xie R.J., Zheng L., Jing L. He. S.L., Xi W.P., Lv Q., Yi S.L., Zengh Y.Q., and Deng L. 2013. The Effect of Cultivar and Bagging on Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Three Sweet Orange Cultivars (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *American-Eurasian Journal. Agriculture and Environ. Sci.* 13(2): 139-147.
- 28- Yang W.H., Zhu X.C., Bu J.H., Hu G.B., Wang H.C., and Huang X.M. 2009. Effects of bagging on fruit development and quality in cross-winter off-season longan. *Scientia Horticulturae*, 120: 194-200.



Quality Improvement and Fruit Ripening Acceleration in Date Palm cv. Kabkab Using Colored Covers and Bunch Positioning

A. Rostaami¹- M. Rahemi^{2*}- M. Eizadi³

Received: 13-03-2017

Accepted: 20-10-2018

Introduction: As one of the oldest fruit trees, palm, from almost 5,000 years ago till now, has been growing in North Africa and the Middle East. Phenological ripening process of fruit trees are determined through factors such as genetic, environmental and controlled practices. Among these factors, radiation as a natural factor affects other processes such as photosynthesis, flowering, performance and color of a fruit. Considering the importance of producing organic fruits, it is highly effective to use different coatings to improve the gardening products. Results of this study showed the effect of light on strawberry fruit coating which has the capacity to pass higher levels of UV light. As a result of applying coating the average fruit weight, fruit number, phenols, pigments, anthocyanins and flavonoids were significantly increased, but no significant difference was observed for the total yield. Use of coverage on apple trees reduced physical damage and improved the color of the fruit. The blue covering improved the physical and chemical factors in banana. Date palm bunch covers offer several advantages to protect fruits from high humidity and rain, from bird attacks and also from damage caused by insects and diseases. A sturdy light-brown craft-paper is used in the USA to cover and provide good protection of the bunch during the ripening season. Bunch covering is, however, not only practiced against rain damage but traditionally is also used in the form of coarsely woven well-ventilated baskets (sund) to protect the maturing fruits from birds and prevent early ripening fruit from falling to the ground. Bagging treatment has been widely used as a physical protection technique in other fruit-tree species for not only protecting fruits from diseases and pests, but also changing the microenvironment of fruit development growth, which subsequently affects internal and external qualities, such as skin color, acidity, sweetness and aroma. A large number of experimental data obtained in peach, pear, apple etc, showed that bagging treatment might lead fruits to increase or decrease of ascorbic acid (Vc), TSS, anthocyanin, organic acids contents etc.

This study also aimed to show how the quality, quantity and speed of the ripening process of fruit date palm Kabkab can be improved using covering method.

Material and Methods: This research was carried out at the Tropical Fruits and Dates Research Station in Bushehr Province. Considering the above purpose, a complete randomized block design was employed. Accordingly, 6 treatments including bags with dimensions of 120 × 70 cm in 5 colors (green, yellow, white, gray, and blue) and with a four-time repeating pattern were applied to 20 years old Kabkab palm trees. All trees were pollinated by a controlled pollinator. Factors measured included the ripening speed of fruit per unit of time, the weight of the entire cluster, cluster weight, fruit weight, TSS, TA and pH.

Data collection and Analysis: factorial complete randomized block design was carried out and data were analyzed statistically by analysis of variance and least significant differences (LSD 5%).

Results and Discussion: Based on the results obtained, the direction and color of the bag on the characteristics of fruit appearance has no significant effect. Awad (2007) achieved similar results with colored bags including black, white, blue and white coating on the date palm Helali obtained. Alcobendas (2012) found that the geographical location of peach fruit on the tree has no effect on the weight of meat, fruit weight, fruit diameter, fruit dry weight and pulp to stone ratio. The results showed that bunch weight and fruit weight significantly increased in the north. Tyas *et al* (1998) reported lychee trees in directions of northeastern and northwestern produces the highest and directions of southwest

¹ and ²- Former M.Sc. Student and Professor Department of Horticultural Sciences, Shiraz University, Shiraz, Iran

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

³- Crop and Horticultural Science Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran

and the southeast had the least amount of fruit. Gray coverage significantly increased the rate of ripening of the fruit in the unit time in both years. Awad (2007) said it might be possible that bunch bagging, especially with black and blue polyethylene bags, accumulated higher heat units than other bags and the controls. Consequently, accumulated heat might induce higher respiration rates and the CO₂ accumulation within bags might lead to more acetaldehyde production and removal of astringency.

Conclusions: According to data obtained from physiological factors it can be concluded that palm bunch covering accelerates the ripening of fruits. Also, the data obtained from the directions of bunch shows those bunches located on the north side of the palm tree weigh more.

Keywords: Covering color, Date palm, Fruit ripening, Quality



ارزیابی تغییرات خرداقليمی محیط در دو گونه درختی اقا قیا معمولی و کاج در فضای سبز شهر مشهد

زهرا کریمیان^{۱*} - علی تهرانی فر^۲ - محمد بنایان^۳ - مجید عزیزی^۴ - فاطمه کاظمی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶

چکیده

با توجه به افزایش جمعیت و توسعه روزافزون شهرها تأمین شرایط زیستی مطلوب برای شهروندان یکی از نیازهای اساسی جامعه شهری می‌باشد. به این منظور آزمایشاتی در فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد اجرا و داده‌های اقلیمی در زیر دو گونه درختی اقا قیا، کاج و فضای باز و همچنین طی یک دوره ۱۹ ساله از ایستگاه هواشناسی مشهد دریافت، ثبت و آنالیز شدند. داده‌های گروه اول با داده‌های ایستگاه هواشناسی به منظور بررسی مشابهت اثر سایه حاصل از درختان و پوشش ابر بر تغییرات خرداقليمی از نظر آماری مقایسه شدند. نتایج نشان داد بین دمای ثبت شده در زیر تاج درخت اقا قیا با کاج و بین رطوبت ثبت شده در این دو گونه درختی با فضای باز معادل، اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین، بین دمای ثبت شده در گروه آسمان کاملاً صاف و آسمان نسبتاً ابری با آسمان با پوشش ابر زیاد تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. نتایج همچنین نشان دادند دما و رطوبت نسبی حاصل از سایه دو گونه درختی با آسمان نسبتاً ابری و آسمان با پوشش ابر زیاد از نظر آماری قابل مقایسه نیستند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که فضای سبز و سبزی‌سازی محیط در مناطقی که اغلب در طول سال آسمان ابری دارند نیز نبایستی نادیده گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: پوشش ابر، پوشش گیاهی، دما، رطوبت نسبی

مقدمه

سرعت باد می‌تواند کیفیت فعالیت‌های تفریحی افراد را تحت تأثیر قرار دهند (۱۶، ۲۰ و ۲۳). با وجود این شرایط، برای افرادی که قصد دارند زمان استراحت خود را در یک محیط مطلوب از نظر زیست اقلیمی و فیزیکی صرف کنند، تنها یک بازه زمانی نسبتاً کوتاه در روز و سال برای این منظور باقی می‌ماند؛ زیرا یک فضای باز که از نظر اقلیمی در شرایط مطلوبی باشد، نوع و میزان فعالیت فیزیکی فرد را به طور مثبت تحت تأثیر قرار می‌دهد. بنابراین ایجاد مکان‌های مناسب برای پاسخ به مطالبات خرداقليمی افرادی که از فضاهای تفریحی استفاده می‌کنند، ضروری است (۱۸). تاکنون پژوهش‌های فراوانی در ارتباط با تأثیر مثبت فضای سبز، به‌ویژه درختان بر تغییر خرداقليمی و آسایش دمایی انسان در سطح دنیا صورت گرفته است. در این بین مهمترین اثرات گزارش شده فضای سبز مربوط به تأثیر آن بر کاهش دما، افزایش رطوبت نسبی و در نهایت بهبود آسایش خرداقليمی است (۲، ۳، ۷، ۸، ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۲۷، ۲۹ و ۳۰).

در زمینه تأثیر پوشش گیاهی بر دما و رطوبت نسبی محیط در خارج از ایران تحقیقات زیادی صورت گرفته است و نتیجه حاصل از این تحقیقات به طور کلی بیان می‌کنند که پوشش‌های گیاهی (به‌ویژه درختان) می‌توانند محیط پیرامون خود را بواسطه کاهش دما حاصل از سایه‌دهی و جذب و انتشار پرتوهای خورشیدی، تبخیر و

بسیاری از شهرهای بزرگ ایران با افزایش دما در نتیجه پدیده شهرنشینی و وجود جزایر گرمایی روبرو هستند (۹ و ۲۱). این مساله، اثرات نامطلوبی بر سلامت و آسایش ساکنین شهرها می‌گذارد. از آن جایی که شهروندان غالباً در اماکن تفریحی نظیر پارک‌ها، بوستان‌ها و بیلاقات در طول ساعات تفریح و استراحت در معرض آب و هوای محیط بیرون قرار می‌گیرند، وجود محیطی با اقلیم مطلوب جهت تأمین رضایت آن‌ها دارای اهمیت است (۳۰).

خرداقليمی یکی از عوامل خارج بوم‌سازگانی به شمار می‌آید که بر فعالیت افراد در محیط‌زیست اثرگذار است و از نقطه نظر صنعت گردشگری و تفریح، به عنوان یک منبع مهم اقتصادی به شمار می‌آید (۱۹ و ۲۵). عوامل اقلیمی زیادی نظیر دما، رطوبت نسبی، تشعشع و

۱- استادیار گروه گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*) نویسنده مسئول: (Email: zkarimian@um.ac.ir)

۲، ۴ و ۵- به ترتیب استادان و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.66069

تعرق، و نیز بواسطه کاهش سرعت باد، تحت تأثیر قرار دهند (۷، ۱۰، ۱۵، ۲۳، ۲۴ و ۲۷).

اثرات درختان و پوشش‌های ابری بر عناصر خرداقلیمی در تخمین و توسعه مدل‌های مختلف نیز توسط چن و همکاران (۴)، هیسلا و رنگ (۱۲)، استرلینگ و ماتزاراکیس (۲۷)، تامکینز (۲۸)، توی و ییلماز (۲۹ و ۳۰)، وینیکوف (۳۱) و والک (۳۲) به‌منظور اهدافی مثل محاسبه آسایش دمایی و اندازه‌گیری عناصر اقلیمی مورد بررسی قرار گرفته است. مکانیسم خنک کردن حاصل از ابر و تاج درختان دارای شباهت‌هایی است و عمدتاً هر دو از طریق ایجاد سایه در سطح زمین به‌طور مستقیم و به خاطر ظرفیت تولید رطوبت، به‌طور غیرمستقیم توانایی خنک کردن محیط پیرامون خود را دارند (۱۱، ۱۴، ۲۰، ۲۳ و ۳۲). تفاوت در پارامترهای خرداقلیمی در زیر تاج درختان و فضای باز (۳۴ و ۱۷) و در شرایط ابری و بدون ابر به صورت مجزا و گاه توأم با یکدیگر در تحقیقات فراوانی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۳، ۳۱ و ۳۲). از این تحقیقات به‌طور کلی این نتیجه بدست می‌آید که با افزایش میزان تاج‌پوشش درختان و درصد پوشش ابری، دمای هوا در طی روز در مطالعات مختلف با مقادیر متفاوتی کاهش می‌یافت. از آنجایی که مکانیسم‌های خنک کردن در زیر تاج‌پوشش درخت با پوشش ابر نسبتاً یکسان می‌باشد و ممکن است بتوان تغییرات دما و رطوبت نسبی را بر اساس طبقه‌بندی‌های ابری محاسبه کرد و آن را با در نظر گرفتن گستره تاج درخت، به تاج‌پوشش و فضای سبز ساخته شده با درختان نسبت داد (۳۰، ۱۱ و ۲۸). با در دست داشتن داده‌های ایستگاه هواشناسی و داده‌های میدانی خرداقلیمی، فرضی متفاوت در مورد تغییرات دما و رطوبت در اماکن و فضاهای تفریحی با در نظر گرفتن طبقه‌بندی داده‌های مربوط به پوشش ابر و گونه‌های درختی قابل طرح است. به این ترتیب می‌توان بیان کرد که ممکن است شرایط خرداقلیمی در زیر تاج درختان و در محیط‌های ابری با آنچه در فضای باز و آسمان صاف و بدون ابر وجود دارد، متفاوت و یا مشابه باشد.

با توجه به شرایط اقلیمی نامناسب، جمعیت بالا و همچنین فعالیت زیاد شهروندان، شهر مشهد از نظر تعداد اماکن مناسب به منظور فعالیت‌های تفریحی با محدودیت مواجه است. از یک طرف به خاطر کمبود برنامه‌ها و مدل‌های طراحی فضای سبز و کشت گیاهان با در نظر گرفتن عامل آسایش دمایی در اماکن تفریحی، نیاز به پژوهش‌های مرتبط در این شهر بسیار ضرورت می‌یابد. از طرف دیگر بدلیل فقدان مطالعه میدانی فضای سبز از نقطه نظر آسایش دمایی شهروندان در مشهد و همچنین سایر شهرهای کشور، اطلاعات و منابع در این زمینه بسیار محدود بوده و قدم گذاشتن در این مسیر با توجه به مشکلات و ضرورت‌های بیان شده بسیار سودمند خواهد بود. هدف از طرح و اجرای این پژوهش، پاسخ به این پرسش‌ها بود که: (۱) آیا استفاده از تک درختان، تفاوت قابل حسی از نظر دما و رطوبت نسبت به فضای باز (بدون درخت) به وجود می‌آورد؟ (۲) آیا

درخت افاقیا (*Robinia pseudoacacia*) به عنوان شاخصی برای یک گونه پهن برگ و خزان کننده در مقایسه با درخت کاج (*Pinus eldarica*) به عنوان شاخصی برای گونه‌های سوزنی برگ و همیشه سبز از نظر تغییر خرداقلیم اطراف خود متفاوت عمل می‌کنند؟ (۳) آیا عناصر خرداقلیمی دما و رطوبت نسبی در زیر تاج درختان با طبقه‌بندی‌های پوشش ابری قابل مقایسه است؟ و (۴) کدام یک از درختان مورد بررسی در این تحقیق از نظر انتخاب نوع گونه‌های درختی در اماکن تفریحی و فضای سبز مشهد به منظور بهبود آسایش دمایی در ماه‌های گرم سال موثرتر است؟

مواد و روش‌ها

داده برداری‌های این مطالعه در فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. مطابق گزارش اداره کل هواشناسی استان خراسان رضوی، میانگین و حداکثر درجه حرارت درازمدت در فصل تابستان به ترتیب ۳۲ و ۴۳ درجه سانتی‌گراد است. میانگین بارش سالانه درازمدت در شهر مشهد ۲۵۴/۳ میلی‌متر و حداقل میزان بارندگی آن در فصل تابستان و صفر میلی‌متر گزارش شده است. میانگین و حداقل رطوبت نسبی در فصل تابستان به ترتیب ۳۶ و ۲ درصد بوده است. بادهای جنوب شرقی و سرعت ۳-۶ نات غالب هستند (۵).

هدف اصلی در این بررسی تشابه و یا عدم تشابه شرایط خرد اقلیمی (دما و رطوبت نسبی) در زیر تاج درخت با پوشش آسمان ابری بود. به این منظور شرایط آسمان ابری و سایه حاصل از درختان افاقیا و کاج از نظر تطابق اثر آن‌ها در ممانعت از تابش نور خورشید با یکدیگر مقایسه شد. در گروه‌بندی پوشش ابری از اعداد ۸-۰ که اکتاز نامیده می‌شود استفاده شد و چهار گروه اکتاز ۰، ۱-۴، ۵-۷ و ۸ به ترتیب نماینده آسمان کاملاً صاف (SKC)^۱، آسمان نسبتاً ابری (SCT)^۲، آسمان با پوشش ابری زیاد (BKN)^۳ و آسمان کاملاً ابری (OVS)^۴ بودند. گونه‌های انتخابی در این آزمایش دو گونه غالب و پرکاربرد در فضای سبز مشهد هستند. افاقیا یک درخت خزان‌پذیر و پهن‌برگ با سایه‌دهی نسبتاً بالا و کاج درختی همیشه سبز و سوزنی‌برگ است که سایه‌دهی کم تا متوسط دارد که به ترتیب در این پژوهش به عنوان شاخصی برای گونه‌های درختی پهن‌برگ و سوزنی‌برگ در نظر گرفته شدند. درختان افاقیا مورد استفاده در این مطالعه با نام علمی *Robinia pseudoacacia* و از نوع بذری بودند. درختان کاج مورد مطالعه با نام علمی *Pinus eldarica* مرسوم به کاج تهران بودند. هر دو گونه درختی مورد استفاده در این پژوهش هم

1- Sky Clear

2- Scattered Sky

3- Broken Sky

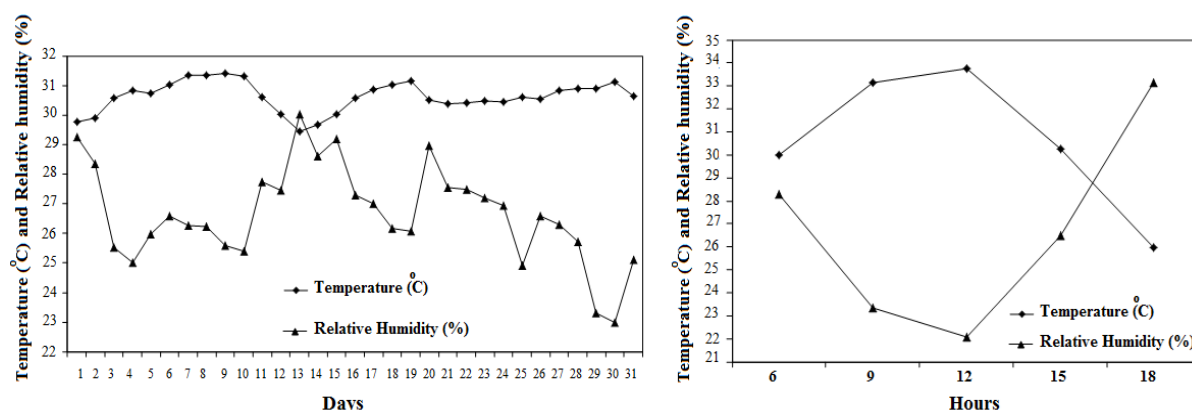
4- Overcast Sky

استاندارد در ایستگاه‌های هواشناسی محاسبه شد. به منظور مقایسه اثرات گروه‌بندی‌های پوشش آسمان ابری و دو گونه درختی اقلای و کاج، از میانگین‌های دما و رطوبت ثبت شده در سایت‌های مورد آزمایش و داده‌های دریافتی از ایستگاه هواشناسی استفاده شد. در مقایسه اثرات این دو محیط بر دما و رطوبت نسبی دو فرض مطرح است: اول این که بین میانگین‌های دمایی و رطوبتی بدست آمده در شرایط آسمان ابری SCT و سایه زیر تاج درخت کاج و همچنین بین شرایط ابری BKN و سایه زیر تاج درخت اقلای اختلاف معنی‌داری از نظر آماری وجود ندارد و دوم این که بین این میانگین‌ها در شرایط ابری SCT با درخت کاج و همچنین بین شرایط ابری BKN با درخت اقلای اختلاف معنی‌دار از نظر آماری وجود دارد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی از طریق همین نرم‌افزار صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌های مربوط به دما و رطوبت ۱۹ ساله هواشناسی در شرایط پوشش ابری متفاوت، اختلاف آماری معنی‌داری را بین گروه‌های ابری طبقه‌بندی شده در سطح ۵ درصد نشان داد. از آنجایی که در این آنالیز از داده‌های ۱۹ ساله دما و رطوبت در روزهای گرم‌ترین ماه سال و ساعات مختلف روز استفاده شد، بنابراین اثرات سال، روز و ساعت نیز در آن مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). آنالیزها نشان دادند تنها بین گروه‌های پوشش ابری SKC و SCT با BKN اختلاف دمایی معنی‌دار ($p < 0.05$) وجود داشت. بیشترین اختلاف دمایی حدود ۰/۵ درجه سانتی‌گراد بود (شکل ۱). در آنالیز داده‌های رطوبت نسبی، اختلاف معنی‌دار بین همه گروه‌های پوشش ابری به جز SCT با SKC با بیشترین اختلاف رطوبتی حدود ۱/۳ درصد مشاهده شد ($p < 0.05$) (شکل ۱).

سن و حدوداً ۱۰ ساله بودند. این درختان به گونه ای انتخاب شدند که از نظر ابعاد تاج و ارتفاع درخت و همچنین سطح سایه انداز به هم نزدیک باشند. ارتفاع درختان مورد مطالعه تقریباً ۳/۵ متر و گستره تاج آن‌ها حدوداً ۳ متر بود، اگر چه تراکم تاج بین دو گونه اقلای و کاج یکسان نبودند و در گونه اقلای تراکم برگ‌ها و تاج بیشتر بود. این دو گونه بر اساس میزان و اثرات سایه‌دهی با عدد اکتاز متناظر با خود مطابقت داده شدند، به این ترتیب که درخت اقلای با تاج گسترده و سایه‌دهی نسبتاً بالا با وضعیت پوشش ابری BKN (اکتاز برابر با ۷-۵) و کاج با سایه‌دهی نسبتاً پایین با وضعیت پوشش ابری SCT (اکتاز برابر با ۴-۱) برابر در نظر گرفته شدند (۲۹ و ۳۰). داده‌های اندازه‌گیری شده دما و رطوبت نسبی بین سال‌های ۱۹۹۰-۲۰۰۸ و در گرم‌ترین ماه سال (اواسط تیر-اواسط مرداد) از ایستگاه هواشناسی مشهد دریافت شد. سپس در هر سال، میانگین دمایی مطابق با میزان پوشش ابری آسمان در آن روز (بین ساعات ۶-۱۸) به سه گروه SKC (آسمان کاملاً صاف یا اکتاز=۰)، SCT (آسمان نسبتاً ابری یا اکتاز=۴-۱) و BKN (آسمان با پوشش ابری زیاد یا اکتاز=۷-۵) و OVS (آسمان کاملاً ابری یا اکتاز=۸) طبقه‌بندی شدند. جهت تعیین اثرات سایه حاصل از گونه پهن‌برگ اقلای و سوزنی‌برگ کاج، طی دوره یک ماهه از اواسط تیر-اواسط مرداد در تابستان سال ۱۳۹۱ مقادیر دو متغیر دما و رطوبت نسبی در زیر تاج هر درخت در پردیس دانشگاه فروسی مشهد ثبت شدند. علاوه بر اثر تاج درخت، اثرات روز و ساعت نیز مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از هر گونه درختی ۱۰ عدد به عنوان تکرار مورد بررسی و داده برداری قرار گرفت. برای ثبت دما و رطوبت نسبی از ثبت کننده دما و رطوبت مدل (Standard ST-171) استفاده شد. ثبت کننده‌ها در سه مکان ۱. زیر تاج پوشش درخت اقلای (نماینده BKN)، ۲. زیر تاج پوشش درخت کاج (نماینده SCT) و ۳. در فضای باز (نماینده SKC) نصب شدند هر ۵ ثانیه یک‌بار پارامترها را ثبت کرده و در نهایت میانگین روزانه دما و رطوبت نسبی در ساعات ۶-۱۸ هر روز و منطبق با داده‌برداری

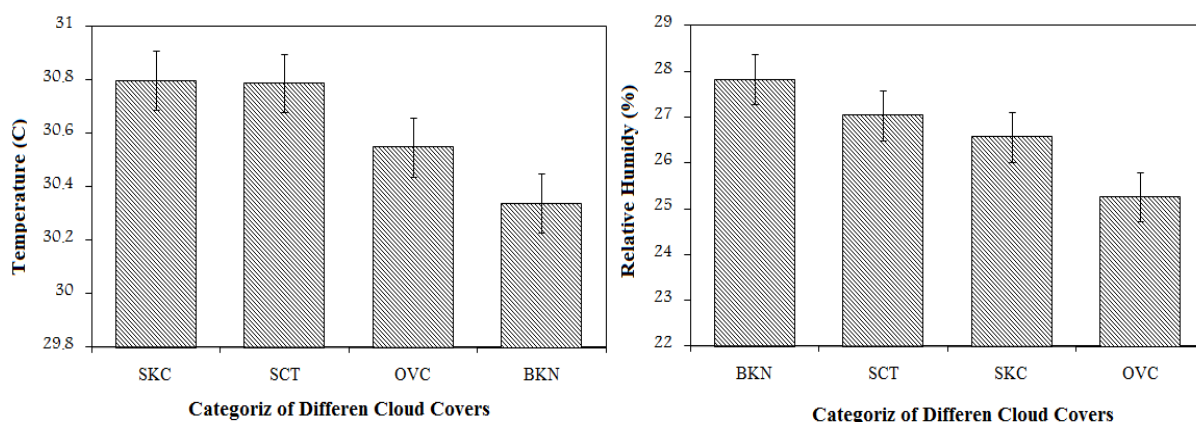


شکل ۱- تأثیر پوشش‌های ابری مختلف بر دما و رطوبت نسبی طی یک دوره ۱۹ ساله

Figure 1- Effect of different cloud covers on temperature and relative humidity during 19 years

جدول ۱- آنالیز واریانس داده های دما در طبقه بندی های مختلف پوشش ابر، سال، روز و ساعت در دوره ۱۹ ساله
Table 1- Analysis variance of temperature and humidity data in different categories of cloud covers, year, day and hour during 19 years

رطوبت نسبی Relative humidity (%)				دما Temperature (°C)			
Source منبع	DF درجه آزادی	Mean square میانگین مربعات	F	Source منبع	DF درجه آزادی	Mean square میانگین مربعات	F
Year سال	19	101.79	133*	Year سال	19	7374.5	530.12*
Day روز	30	24.87	32.5*	Day روز	30	257.4	18.50*
Hour ساعت	4	5218.11	6817.91*	Hour ساعت	4	10422.1	749.20*
Oktaz groups گروه های اکتازی	3	6.81	8.89*	Oktaz groups گروه های اکتازی	3	46.3	3.33*
Year × Day سال × روز	570	20.40	26.66*	Year × Day سال × روز	570	166.4	11.96*
Year × Hour سال × ساعت	79	4	5.22*	Year × Hour سال × ساعت	79	66.7	4.79*
Day × Hour روز × ساعت	120	0.82	1.07	Day × Hour روز × ساعت	120	15.4	1.11
Error خطا	2275	0.77	-	Error خطا	2275	13.9	-
Total کل	3097	-	-	Total کل	3097	-	-



شکل ۲- تغییرات دما و رطوبت نسبی در طی دوره ۱۹ ساله (۱۹۹۰-۲۰۰۸) در گرم ترین ماه سال
Figure 2- Temperature and relative humidity changes during 19 years (1990-2008) in the hottest month

در طی ۱۹ سال به ترتیب حدود ۲ و ۸ درجه سانتی گراد و اختلاف رطوبت بیشینه و کمینه روزهای ماه و ساعات روز در این دوره به ترتیب حدود ۷ و ۱۱ درصد بودند (شکل ۲).
نتایج آنالیز آماری داده های ثبت شده دما و رطوبت نسبی در زیر درختان کاج، اقاقیا و در فضای باز در طی گرم ترین ماه سال در جدول ۲ ارائه شده است. بین دمای ثبت شده در زیر تاج درخت کاج (۳۴/۲۱ درجه سانتی گراد) و فضای باز (۳۴/۱۹ درجه سانتی گراد) با درخت

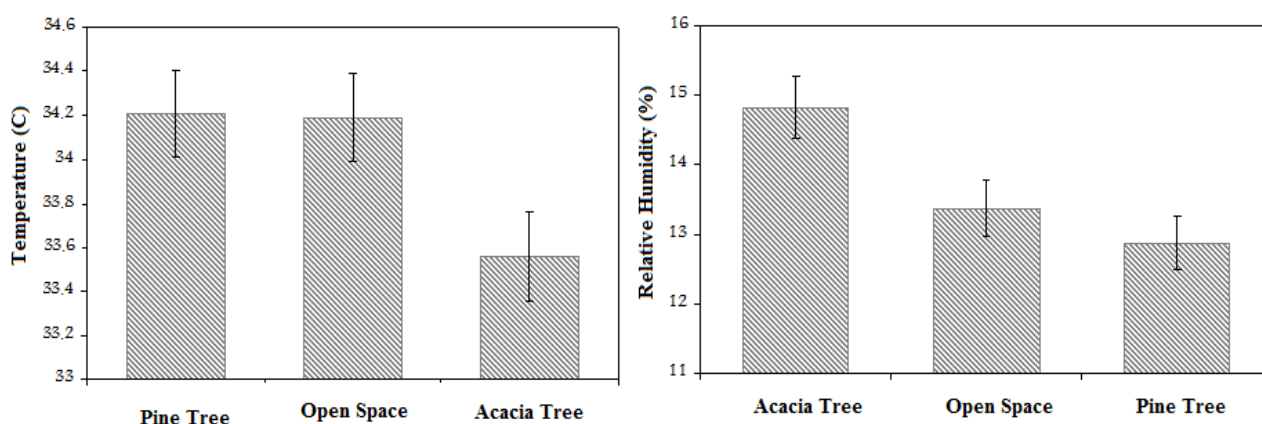
تغییرات دمایی در طی دوره ۱۹ ساله از سال ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۸، تقریباً روند افزایشی و تغییرات رطوبتی روند کاهشی را نشان می دهد که شاید بتوان گفت این مساله با پدیده تغییر اقلیم و گرم شدن زمین در ده های اخیر قابل تطبیق است (۱). مطابق با جدول ۱ روزهای مختلف گرم ترین ماه سال و ساعات مختلف روز در طی دوره ۱۹ ساله دارای اختلاف معنی دار دمایی و رطوبتی بودند ($p < 0.05$)، به طوری که اختلاف دما بین گرم ترین و خنک ترین روزهای ماه و ساعات روز

(۱۲/۸۸ درصد)، تاج درخت اقلای (۱۴/۸۱ درصد) و فضای باز (۱۳/۳۷ درصد)، بین رطوبت نسبی ثبت شده اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p < 0.05$) (شکل ۳).

اقلای (۳۳/۵۶ درجه سانتی‌گراد) اختلاف معنی‌دار وجود دارد اما اختلاف دمایی بین درخت کاج و فضای باز از نظر آماری معنی‌داری نشد ($p < 0.05$) (شکل ۳). در هر سه مکان یعنی زیر تاج درخت کاج

جدول ۲- آنالیز واریانس داده‌های دما و رطوبت نسبی در زیر تاج درختان و فضای باز در گرمترین ماه سال
Table 2- Analysis variance of temperature and humidity data under tree canopy and open space during the hottest month of year

رطوبت نسبی Relative humidity (%)				دما Temperature (°C)			
Source منبع	DF درجه آزادی	Mean square میانگین مربعات	F	Source منبع	DF درجه آزادی	Mean square میانگین مربعات	F
Under canopy زیر سایبان درخت	2	49.99	58.12*	Under canopy زیر سایبان درخت	2	373.21	752.38*
Day روز	30	216.60	364.50*	Day روز	30	574.12	1157.40*
Hour ساعت	11	576.81	970.69*	Hour ساعت	11	2110.21	4254.12*
Day × Hour روز × ساعت	330	1.05	1.77*	Day × Hour روز × ساعت	330	9.99	20.13*
Error خطا	742	0.59	-	Error خطا	742	0.5	-
Total کل	1115	-	-	Total کل	1114	-	-

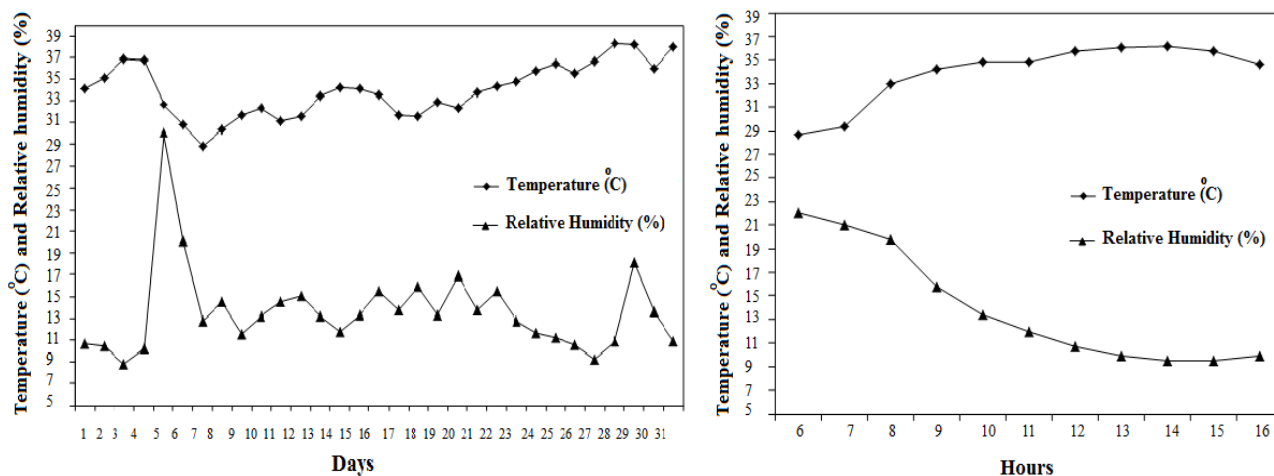


شکل ۳- تأثیر تاج درختان و در مقایسه با محیط باز بر دما و رطوبت نسبی طی گرمترین ماه سال
Figure 3- Effect of tree crown in comparison with open space on temperature and relative humidity during hottest month of year

پوشش‌های مختلف ابر در جدول ۳ و ۴ ارایه شده‌اند. میانگین‌های دما و رطوبت ثبت شده در زیر تاج درخت کاج و اقلای به ترتیب با داده‌های حاصل از ایستگاه هواشناسی در شرایط آسمان نسبتاً ابری و آسمان با پوشش ابر زیاد دارای اختلاف معنی‌دار هستند ($p < 0.05$). آسمان با پوشش ابر زیاد و آسمان نسبتاً ابری در مقایسه با اقلای و کاج به ترتیب ۴/۶ و ۴/۵ درجه سانتی‌گراد محیط را خنک‌تر کردند (جدول ۲). همچنین پوشش ابر باعث افزایش بیشتری در میزان

طبق جدول ۲ در این بخش از آزمایش، روزهای مختلف ماه و ساعات مختلف روز دارای اختلاف معنی‌دار دمایی و رطوبتی بودند ($p < 0.05$)، به‌طوری‌که اختلاف دما بین گرم‌ترین و خنک‌ترین روزهای ماه و ساعات روز به‌ترتیب حدود ۹/۵ و ۷/۵ درجه سانتی‌گراد و اختلاف رطوبت بیشینه و کمینه روزهای ماه و ساعات روز در این دوره به ترتیب حدود ۲۱/۸ و ۱۲/۶ درصد بودند (شکل ۵). نتایج مقایسه میانگین بین دما و رطوبت ناشی از تاج درختان با

رطوبت نسبی محیط در مقایسه با تاج پوشش تک درخت می شود به طوری که ۱۶/۶ و ۸/۲ درصد محیط را مرطوب تر کردند (شکل ۳).



شکل ۴- تغییرات دما و رطوبت نسبی روزها و ساعات مختلف روز طی دوره گرمترین ماه سال ۱۳۹۰

Figure 4- Temperature and relative humidity changes of different days and hours during the hottest month of 2012

جدول ۳- مقایسه میانگین بین دما ناشی از تاج درختان و فضای باز با پوشش های مختلف ابر

Table 3- Comparison of mean between temperature from tree canopy and open space with different cloud covers

Compare groups گروه های مقایسه	Mean (°C) میانگین	Mean difference اختلاف میانگین	Standard deviation انحراف استاندارد	Mean ± SE	t	F
Pine tree vs. Scattered Sky درخت کاج با نسبتاً ابری	34.71 30.06	-4.64	3.34 4.98	0.19 0.36	-12.46	*59.46
Acacia tree vs. Broken Sky درخت ااقیا با پوشش ابر زیاد	34.01 28.61	-4.5	3.25 5.03	0.18 0.83	-8.91	*57.72

جدول ۴- مقایسه میانگین بین دما ناشی از تاج درختان و فضای باز با پوشش های مختلف ابر

Table 4- Comparison of mean between relative humidity from tree canopy and open space with different cloud covers

Compare groups گروه های مقایسه	Mean (°C) میانگین	Mean difference اختلاف میانگین	Standard deviation انحراف استاندارد	Mean ± SE	t	F
Pine tree vs. Scattered Sky درخت کاج با نسبتاً ابری	12.66 20.85	-8.19	5.84 8.80	0.30 0.64	-13.08	39.92*
Acacia tree vs. Broken Sky درخت ااقیا با پوشش ابر زیاد	14.81 31.42	-16.61	6.61 15.31	0.34 2.55	-12.27	93.71*

ابر حاصل می شود، منجر به کاهش و خنک شدن درجه حرارت سطحی می شود. وینیکوف (۳۱) نیز در مطالعاتی با بررسی داده های ۴۸ ساله چندین ایستگاه هواشناسی در فصل تابستان، اختلاف دمایی معنی داری را بین پوشش های ابری مختلف ثبت کردند. نتایج تحقیقات دیگر نیز نشان می دهد که پوشش ابر به دلیل بازتابش پرتوهای خورشید به فضا باعث کاهش دمای محیط شده که خود منجر به افزایش میزان رطوبت نسبی محیط خواهد شد (۴، ۲۰ و ۲۸). از آنجایی که روزهای با پوشش کامل ابر در فصل تابستان در شهر

نتایج به دست آمده در بخش تاثیر طبقه بندی های پوشش ابر بر دما و رطوبت نسبی با مطالعات والک (۳۲) که نشان می داد پوشش ابری به دلیل بازتاب و انعکاس نور خورشید به فضا منجر به کاهش درجه حرارت محیط می شود و همچنین با تحقیقات مشابه توی و ییلماز (۳۰) در این زمینه مطابقت دارد. با در نظر گرفتن مطالعات آماری بلند مدت و گسترده گرویسمن و همکاران (۱۱) یافته های این بخش از تحقیق قابل قبول هستند زیرا بر اساس این گزارشات در تابستان ها، افزایش در میزان فشار بخار هوا که در پی افزایش پوشش

بواسطه عمل تبخیر و تعرق و از طرف دیگر به دلیل تاثیر در کاهش دما محیط باعث افزایش میزان رطوبت نسبی می‌شوند. رطوبت نسبی تحت تاثیر میزان دمای محیط است به گونه ای که با کاهش دما، کاهش در فشار بخار هوا و در نتیجه افزایش نرخ تبخیر و تعرق گیاهان و به دنبال آن افزایش رطوبت نسبی محیط را خواهیم داشت (۳۳).

دما و رطوبت در دو وضعیت وجود درخت و حضور ابر با یکدیگر مشابهت خرداقلیمی ندارند و اثر آن‌ها بر تغییرات دما و رطوبت محیط یکسان نیست و بنابراین قابل جایگزینی نیستند. به طوری که پوشش ابر در مقایسه با کانوپی تک درخت، تاثیر بیشتری بر کاهش دما نشان داد. تاکنون تنها دو گزارش علمی از مطالعات مشابه که به مقایسه دما و رطوبت حاصل از سایه درختان با ابر می‌پردازد در کشور ترکیه توسط توی و ییلماز (۲۹ و ۳۰) به چاپ رسیده است که با نتایج حاصل از این تحقیق مغایرت دارد. از آنجایی که توی و ییلماز در مطالعات خود از داده‌های هر دو فصل گرم و سرد استفاده کرده و گزارش نتایج به صورت کلی بیان شده است، نتایج نهایی آن‌ها از نظر علمی لزوماً با تحقیق حاضر قابل مقایسه نیست. اگر چه بر طبق نظرسنجی‌ها و مطالعات مختلف، در شهرها و مناطق گرم و بویژه خشک، افراد بهترین تجربه دمایی و رطوبتی و بنابراین مطلوب‌ترین احساس آسایش دمایی را در دو فصل بهار و پاییز دارند (۶ و ۱۷) که همواره با درصد مطلوبی از ابر در آسمان همراه است، اما نتایج این بخش از تحقیقات نشان داد که تاثیرات تاج‌پوشش درخت و پوشش ابر بر میزان دما و رطوبت نسبی در شهر مشهد متفاوت می‌باشد و اگر چه بر اساس نتایج تحقیق حاضر، تاثیرات مثبت خرداقلیمی حاصل از وجود پوشش ابر در تابستان سال ۱۳۹۱ در مقایسه با گونه‌های درختی مورد مطالعه (اقلیم و کاج) بیشتر بوده است اما این مساله از نقش بسیار مهم درختان در اماکن تفریحی و فضای سبز نمی‌کاهد. از طرفی دیگر حضور آسمان ابری و یا نیمه ابری که بتواند باعث خنک‌سازی هوا گردد امری مرتبط با اقلیم و عموماً به سختی قابل کنترل توسط انسان است در حالی که کشت درختان و بهره‌مندی از مزایای خرداقلیمی آن‌ها قابل اجرا و دستیابی است. دلایلی چون استفاده از تک درختان در این آزمایش، پایدار نبودن درصد پوشش ابر در ساعات روز، اختلاف فاحش دما در نقاط مختلف شهر به دلایلی چون وجود جزایر گرمایی می‌تواند دلایل محکمی بر استفاده فضای سبز در اماکن تفریحی در شهر مشهد باشد.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش به طور کلی گونه پهن‌برگ اقلیم در مقایسه با گونه سوزنی‌برگ کاج و فضای باز منجر به تغییرات معنی‌دار خرداقلیمی از نظر کاهش دما و افزایش رطوبت شد. هر چند این

مشهد بندرت گزارش می‌شود، تعداد کل داده‌های دما و رطوبت مربوط به این شرایط در طی ۱۹ سال تنها ۵ مورد ثبت شده است که از نظر آماری جهت آنالیز و مقایسه میانگین مناسب نبوده و به همین دلیل بر خلاف گزارشات و تحقیقات بیان شده، آسمان پوشیده از ابر یا OVC (اکتاز=۸) اختلاف دمایی و رطوبتی معنی‌داری با سایر گروه‌ها نشان نداد.

در مورد تاثیر سایه درخت بر دما و رطوبت نسبی، نواک (۲۰) بیان کرد درختان می‌توانند دمای هوا، جذب تشعشع، ذخیره حرارتی، سرعت باد، رطوبت نسبی، آلودگی سطوح و غیره را به واسطه عمل تبخیر تعرق و اثرات تاج خود تحت تاثیر قرار دهند. شاشوآبار و هافمن (۲۴) در تحقیقی بیان کردند دمای هوا در خیابان‌های دارای درخت در مقایسه با خیابان‌های فاقد درخت حدود ۲/۵-۱ درجه سانتی‌گراد در گرم‌ترین ساعات روز خنک‌تر می‌باشد. توی و ییلماز (۲۹) نیز در مطالعاتی مشابه نشان دادند، منطقه‌ای با پوششی از درختان کاج (*Pinus sylvestris*) در مقایسه با فضای باز ۰/۷ درجه سانتی‌گراد خنک‌تر بود. توی و ییلماز (۳۰) همچنین در تحقیق مشابه دیگری بیان کردند دمای هوا در فضای باز نسبت به فضای زیر دو تک گونه درختی، گرم‌تر می‌باشد. بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق با مطالعات انجام شده مشابه هم‌راستا می‌باشد. گونه پهن برگ اقلیم در مقایسه با گونه سوزنی برگ کاج و فضای باز حدود ۰/۶۴ درجه سانتی‌گراد خنک‌تر بود که این نتیجه با در نظر گرفتن این مساله که میزان تاثیر پوشش گیاهی بر تغییر خرداقلیم به اندازه و سطح پوشش گیاهی وابسته است (۲۵) قابل توجیه می‌باشد زیرا تراکم تاج گونه اقلیم نسبت به گونه کاج بیشتر بود. مطالعات مختلف نیز اثبات می‌کند که تاثیر درختان بر میزان خنک‌سازی آن‌ها در محیط تا حد زیادی به اندازه تاج‌پوشش آن‌ها بستگی دارد (۳، ۷ و ۲۷). علی‌رغم این که مقدار اختلاف دما ثبت شده در این آزمایش کمتر از یک درجه سانتی‌گراد بود اما با نتایج تحقیقات مشابه شاشوآبار و هافمن (۲۴)، فهمی و همکاران (۷)، توی و ییلماز (۲۹ و ۳۰) و گئورگی و زافیریادیس (۸) که گزارش دادند گونه‌های مختلف پوشش گیاهی و درختان باعث کاهش دمای محیط می‌شوند مطابقت دارد.

در این مطالعه بیشترین میانگین رطوبت نسبی مربوط به گونه پهن‌برگ اقلیم می‌باشد که نسبت به گونه سوزنی‌برگ کاج و فضای باز به ترتیب ۲ و ۱/۵ درصد رطوبت نسبی بالاتری دارد در حالی که بین رطوبت نسبی ثبت شده در زیر تاج درخت سوزنی‌برگ کاج نسبت به فضای باز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت که این نتیجه با تحقیقات مختلف که بیان می‌کند پوشش گیاهی و درختان باعث افزایش میزان رطوبت نسبی محیط و تغییر خرداقلیم می‌شوند هم‌راستا می‌باشد (۱۰ و ۲۲).

پوشش‌های گیاهی نظیر درختان عمدتاً به دو شکل منجر به تغییر رطوبت نسبی محیط اطراف می‌شوند. درختان از یک طرف

گرم بیشتر است. اثرات اقلیمی پوشش ابر با دو گونه مورد مطالعه مشابهت نداشت بنابراین به نظر می‌رسد نمی‌توان در روزهای آفتابی و گرم تابستان شرایط آسایش دمایی و خرداقلیمی روزهای نیمه‌ابری بهار و پاییز را صرفاً با پوشش گیاهی مذکور به صورت تک درخت شبیه‌سازی کرد.

کاهش دما چشمگیر نیست اما از آنجایی که تأثیر آن دقیقاً در زیر درخت و در اماکن تفریحی مورد بررسی قرار گرفته است که افراد حاضر در آن اماکن غالباً در محدوده این درختان و حتی در طی استراحت در زیر آن‌ها حضور دارند، دارای اهمیت و تأثیرگذاری است و به نظر می‌رسد که اثر گونه‌های پهن برگ نسبت به سوزنی‌برگ‌ها به صورت تکی در محدوده پیرامون آن‌ها بر تغییر خرداقلیم در فصول

منابع

1. Abbasi F., Babaian I., Habibi Nokhandan M., Golimokhtari L., and Malboosi SH. 2009. Assessment of climate change on temperature and raining in Iran on future decades with model MAGICC-SCENGEN. *Physical Geography Research Quarterly*, 72: 91-109. (In Persian)
2. Bauerle W.L., Bowden J.D., Geoff Wang G., and Shahba M.A. 2009. Exploring the importance of within-canopy spatial temperature variation on transpiration predictions. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3665-3676.
3. Chatzidimitriou A., Chrissomallidou N., and Yannas S. 2005. Microclimate modifications of an urban street in northern Greece. *Proceedings of the PLEA 2005-Passive and Low Energy Architecture*, PLEA International, Beirut, Lebanon. pp. 689-694.
4. Chen Q., Liang X., Xu M., Ling T., and Wang J. 2013. Improvement of cloud radiative forcing and its impact on weather forecasts. *The Open Atmospheric Science Journal*, 7: 1-13.
5. Davoodi M., Mohammadi H., and Bay N. 2009. Analysis and prediction some Mashhad climatic elements. *Nivar Science and Technology Journal*, 71: 35-46. (In Persian)
6. Esmaili R., Gandomkar A., and Habibin, M. 2012. Assessment of comfortable climate in several main Iranian tourism cities using physiologic equivalence temperature index. *Natural Geograpy Researches*, 43(75): 1-18.
7. Fahmy M., Sharples S., and Yahya M. 2010. LAI based trees selection for mid latitude urban developments: A microclimatic study in Cairo. *Egypt, Building and Environment*, 45: 345-357.
8. Georgi N.J., and Zafiriadis K. 2006. The impact of park trees on microclimate in urban areas. *Urban Ecosystems*, 9: 195-209.
9. Ghazanfari M.S., Alizadeh A., Naseri M., and Farid Hosseini A. 2010. Evaluating the Effects of UHI on Mashhad Precipitation. *Journal of Water and Soil*, 24(2): 359-366.
10. Gomez-Muñoz V.M., Porta-Gandara M.A., and Fernandez J.L. 2010. Effect of tree shades in urban planning in hot-arid climatic regions. *Landscape and Urban Planning*, 94: 149-157.
11. Groisman P.Y.A., Bradley R.S., and Sun B. 2000. The relationship of cloud cover to near-surface temperature and humidity: comparison of GCM simulations with empirical data. *Journal of Climate*, 13: 1858-1878.
12. Heisler G.M., and Wang Y. 2002. Applications of a human thermal comfort model, *Proceedings of the Fourth Symposium on the Urban Environment*, 20-24 May, Norfolk, VA, Sponsored by the American Meteorological Society, Boston, MA. USA.
13. Kuttler W., Barlag A.B., and Robmann F. 1996. Study of the thermal structure of a town in a narrow valley. *Atmospheric Environment*, 30(3): 365-378.
14. Lee R. 1978. *Forest microclimatology*, Columbia University Press, New York, 276 p.
15. Lin T., Matzarakis M., and Hwang R. 2010. Shading effect on long-term outdoor thermal comfort. *Building and Environment*, 45: 213-221.
16. Matzarakis A., Rutz and F., and Mayer H. 2007. Modelling radiation fluxes in simple and complex environments—Application of the RayMan model. *International Journal of Biometeorology*, 51: 323-334.
17. Matzarakis A., Karatarakis N. and Sarantopoulos A. 2005., *Tourism climatology and tourism potential for Crete, Greece*, *Annalen der Meteorologie*, 41(2): 616-619.
18. McWilliam V., Brown R., Eagles P., and Seasons M. 2014. Barriers to the effective planning and management of residential encroachment within urban forest edges: A Southern Ontario, Canada case study. *Urban Forestry & Urban Greening*, 13(1): 48-62.
19. Mieczkowski Z. 1985. The tourism climatic index: a method of evaluating world climates for tourism. *The Canadian Geographer*, 29(3): 220-233.
20. Nowak D.J. 1995. Trees pollute? A TREE” explains it all. In: Kollin, C., Barratt. M. (Ed.), *Proceedings of the 7th National Urban Forest Conference*, American Forests, Washington, USA. pp. 28-30.
21. Sadeghinia A., Alijani B., and Ziaian P. 2012. Spatial-temporal analysis of the heat-island metropolis of Tehran using remote sensing and GIS. *Journal of Geography and Environmental Hazards*, 4: 1-17.
22. Safarzadeh H., and Bahadori M.N. 2005. Passive cooling effects of courtyards, *Building and Environment*, 40: 89-

- 104.
23. Scott D., McBoyle G., and Schwartzentruber, M. 2004. Climate change and the distribution of climatic resources for tourism in North America, *Climate Research*, 27: 105-117.
24. Shashua-Bar L., and Hoffman M.E. 2004. Quantitative evaluation of passive cooling of the UCL microclimate in hot regions in summer, case study: urban streets and courtyards with trees. *Building and Environment*, 39: 1087-1099.
25. Spagnolo J., and de Dear R.J. 2003. A field study of thermal comfort in outdoor and semi-outdoor environments in subtropical. Sydney Australia, *Building and Environment*, 38: 721-738.
26. Spangenberg J., Shinzato P., Johansson E., and Duarte D. 2008. Simulation of the influence of vegetation on microclimate and thermal comfort in the city of São Paulo. *Rev SBAU Piracicaba*, 3(2): 1-19.
27. Streiling S., and Matzarakis A. 2003. Influence of single and small clusters of trees on the bioclimate of a city: a case study. *Journal Arboriculture*, 29(6): 309-316.
28. Tompkins A.M. 2003. Impact of temperature and humidity variability on cloud cover assessed using aircraft data, *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 129: 2151-2170.
29. Toy S., and Yilmaz S. 2007. International Congress on Modelling and Simulation. Modelling and Simulation Society of Australia and New Zealand, Newzyland, pp. 1934-1939.
30. Toy S., and Yilmaz S. 2010. Thermal sensation of people performing recreational activities in shadowy environment: a case study from Turkey. *Theoretical and Applied Climatology*, 101: 329-343.
31. Vinnikov K.Y., Grody N., Robock A., and Basist A. 2003. The relationship between cloudiness and surface temperature. *Proceedings of the 12th Conference on Satellite Meteorology and Oceanography*, Long Beach, CA, 9-13 February, American Meteorological Society, Boston, MA. USA.
32. Walcek C.J. 1994. Cloud cover and its relationship to relative humidity during a springtime multitude cyclone. *Monthly Weather Review*, 122: 1021-1035.
33. Will R.E., Wilson S.M., Zou C.B., and Hennessey T.C. 2013. Increased vapor pressure deficit due to higher temperature leads to greater transpiration and faster mortality during drought for tree seedlings common to the forest-grassland ecotone. *Journal of Experimental Botany*, 60(13): 3665-3676.
34. Yilmaz S., Toy S., Irmak M.A., and Yilmaz H. 2007. Determination of climatic differences in three different land uses in the city of Erzurum, Turkey. *Building and Environment*, 42(4): 1604-1613.



Environmental Microclimatic Evaluation under Two Tree Species of Urban Landscape in Mashhad

Z. Karimian^{1*}- A. Tehranifar²- M. Bannayan³- M. Azizi⁴- F. Kazemi⁵

Received: 20-08-2017

Accepted: 28-07-2018

Introduction: Considering population growth and urbanization development, one of the main requirements of the urban society is to create appropriate life condition for dwellers. The microclimate is considered as one of the factors that affect the activity of people in the environment and in terms of tourist and recreational industry, it is considered as an important source of economic. Many climatic parameters such as temperature, relative humidity, radiation and wind speed can affect the quality of people's recreational activities. So far, many studies have been conducted in the world about the positive effects of vegetation specially trees in the urban landscape on the optimizing of microclimate and human thermal comfort. The cooling mechanism of trees and clouds in an area mainly by directly shading the ground surface and indirectly by supplying humidity are similar. Thus, perhaps it be possible to calculate the changes in temperature and relative humidity based on cloud categories and impute it to tree canopy and vegetation size. The purpose of the present study was to answer followed questions, 1) does the use of single tree produce a sensible difference in temperature and humidity relative to open space? 2) Does the acacia tree as an indicator for a broad-leaved species compare to the pine tree as an indicator for the needle species in terms of the microclimatic variation of around themselves act differently? 3) Do the microclimatic elements (Temperature and relative humidity) under the canopies are comparable to various cloudiness conditions?

Materials and Methods: The experiments were conducted at Ferdowsi University of Mashhad. The climate data under two species of false acacia (*Robinia pseudoacacia*) and pine trees (*Pinus eldarica*) and open space were received from Mashhad weather station over a period of 19 years, recorded and analyzed. In the comparison of the effects of vegetation and cloudy conditions on the temperature and relative humidity an assumption was proposed that has been mentioned in the following. The differences between the means of temperature and relative humidity obtained under SKC (Sky Clear) cloudiness conditions and in open space; under SCT (Scattered Sky) conditions and pine trees; and under BKN (Broken Sky) conditions and false acacia tree must be equal or these differences must be statistically not significant. In addition to the effect of tree canopy, the effects of days and hours on the temperature and humidity were investigated. To analysis and also mean comparison, SPSS 16 software was used.

Results and Discussion: The results showed that the temperature (decreasing) and relative humidity (increasing) were significantly different among various cloudiness conditions during 19 years. The results also indicated that between the temperatures recorded under the canopy of pine and false acacia trees, and also among of recorded relative humidity in two trees specious with corresponding outdoor spaces there were significant differences. Also, there were no significant differences among the temperature of the clear sky and the partly cloudy with that of the mostly cloudy sky. Further, clear sky and mostly cloudy sky showed significant differences in terms of relative humidity. Mostly cloudy sky and the partly cloudy sky compared with pine and false acacia trees were about 4.6 and 4.5°C cooler, respectively. The cloud covers, also could enhance the more level of relative humidity in the environment in comparison with single tree canopy, so that were caused a wetter environment equal to 16.6 and 8.4 percent, respectively. The results also showed that temperature and relative humidity created by the shade from false acacia and pine trees are not comparable with the same climatic factors created by partly cloudy and mostly cloudy skies. In the present study, false acacia as a broad-leaved tree compared with pine tree and also open space could cool the environment about 0.65 degree C more that is in line with previous studies that showed the microclimatic impact of vegetation depend on crown and leaf size. Temperature and relative humidity in vegetation (trees) and cloudy condition

1- Assistant Professor, Department of Ornamental Plants, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: zkarimian@um.ac.ir)

2, 4 and 5- Professors and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, Respectively

3- Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

are not comparable with microclimate and their impact on the environment is not the same. The cloud covers, also could enhance the more level of relative humidity in the environment in comparison with single tree canopy, so that were caused a wetter environment equal to 16.6 and 8.4 percent, respectively.

Conclusion: This finding showed that climatic effects of cloud covers had no similarity compared with two studied trees species. It may also indicate that green space and greenery should not also be ignored in areas where cloudy skies are mostly present throughout the year.

Keywords: Cloud cover, Relative humidity, Temperature, Vegetation



ارزیابی تنوع ژنتیکی و وراثت پذیری برخی خصوصیات میوه ژنوتیپ‌های انار

بهروز مرادی عاشور^۱ - محمد ربیعی^{۲*} - بهروز شیران^۳ - سعداله هوشمند^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۷/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

چکیده

انار (*Punica granatum* L.) یک محصول مهم باغی و بومی ایران است که مصرف میوه و یا فرآورده‌های مختلف آن رایج است. با توجه به اینکه ایران دارای غنی‌ترین ذخیره ژنتیکی انار می‌باشد، اطلاع از میزان تنوع صفات مختلف و وراثت‌پذیری آنها در بین ژنوتیپ‌های موجود و شناسایی ژنوتیپ‌های پر محصول جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت خاصی برخوردار است. در این تحقیق برخی خصوصیات میوه ۱۵۶ ژنوتیپ موجود در کلکسیون انار ساوه، با استفاده از ۱۶ صفت مورفولوژیکی و شیمیایی میوه در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. براساس نتایج تجزیه واریانس، اثر ژنوتیپ در کلیه صفات بسیار معنی‌دار بود. از ۹ صفت مورفولوژیکی، صفات تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل و ضخامت پوست میوه تنوع بیشتری نسبت به سایر صفات دارند و از بین صفات بیوشیمیایی صفات شاخص رسیدگی، میزان آنتوسیانین و رنگ قابل جذب آبمیوه دارای بیشترین تنوع بودند که امکان استفاده از تنوع موجود در مراحل بعدی اصلاح انار را مهیا می‌کند. ارتباط معنی‌دار آماری نیز بین وزن میوه با صفات طول و عرض تاج، طول و عرض میوه، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل، وزن آریل و نیز ضخامت پوست میوه وجود داشت که در اصلاح همزمان این صفات حائز اهمیت است. مقدار زیاد قابلیت توارث عمومی محاسبه شده برای وزن آریل، وزن میوه، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل، و ضخامت پوست میوه دلالت بر کم بودن اثرات محیطی بر این صفات بوده و این صفات در فرآیندهای انتخاب نتاج در نسل‌های متوالی قابل استفاده هستند. براساس نتایج این تحقیق، با توجه به نرم و ریز بودن دانه ژنوتیپ شیرین هسته ریز شه‌داد، این ژنوتیپ می‌تواند در برنامه‌های بعدی هیبریداسیون در جهت انتقال صفت نرم‌دانی به ژنوتیپ‌های تجاری به عنوان والد مورد استفاده قرار گیرد. ژنوتیپ دومزه باغ ملک ایزه نیز، از نظر شکل میوه، رنگ میوه و طعم نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برتر بود.

واژه‌های کلیدی: انار، تنوع ژنتیکی، وراثت‌پذیری عمومی، همبستگی

مقدمه

اصفهان، خراسان رضوی، مازندران، آذربایجان، سیستان و بلوچستان، خراسان جنوبی، در منطقه غرب در استان کرمانشاه، ایلام و کردستان مورد کشت و کار قرار می‌گیرد (۳۳). سطح زیر کشت انار در ایران در سال ۱۳۹۴ هفتاد هزار هکتار بود که تقریباً در تمام استان‌های کشور جز استان همدان کشت می‌شود و ۵ استان فارس، مرکزی، خراسان، یزد و اصفهان به ترتیب بیشترین تولید انار را دارا هستند (۱). از اقدامات اساسی که قبل از انجام هر برنامه اصلاحی باید مورد توجه قرار گیرد دستیابی به تنوع ژنتیکی موجود برای صفات مورد نظر است تا به نژادگر به نحو مطلوبی به خصوصیات ذخایر ژنتیکی آگاهی کامل حاصل نماید. در واقع تنوع ژنتیکی بنیان اصلاح‌نباتات است و از اجزای مهم پایداری نظام‌های بیولوژیکی می‌باشد و بررسی آن از اهمیت خاصی برخوردار است (۲۵). دانش تنوع ژنتیکی همراه با مدیریت صحیح ژرمپلاسم را می‌توان در انتخاب ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان مختلف و حفاظت منابع ژنتیکی استفاده کرد (۳۶). در واقع لازمه تعیین وضعیت ذخایر ژنتیکی و تشخیص

انار با نام علمی *Punica granatum* L. یکی از قدیمی‌ترین گونه‌های گیاهی شناخته شده و متعلق به خانواده Puniceae بوده که این خانواده دارای یک جنس منفرد به نام *Punica* و دو گونه به نام‌های *P. granatum* L. و *P. protopunic* می‌باشد (۶). انار با تعداد کروموزوم‌های $2n=2x=16$ و مقدار دگرگشتی ۵۵ درصد، بومی ایران و رشته کوه‌های هیمالیا در شمال هندوستان است که از دوران باستان در نواحی مدیترانه‌ای آسیا، آفریقا و اروپا کشت می‌شده است (۲۶). ایران مرکز تنوع انار و به احتمال زیاد مرکز پیدایش آن نیز می‌باشد (۳۱) و دارای غنی‌ترین ذخایر ژنتیکی انار در جهان می‌باشد که به طور عمده در مناطق کویری از جمله استان‌های یزد، مرکزی،

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته دکتری، استادیار و استادان گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(Email: rabiei@sku.ac.ir)

*- نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.67158

شرایط گیاهان مبنی بر رو به انقراض بودن یا نبودن آنها، بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان در نواحی مختلف می‌باشد.

یکی از روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی استفاده از خصوصیات ظاهری و مورفولوژیکی گیاه می‌باشد. انتخاب براساس صفات مورفولوژیک که به سادگی قابل اندازه‌گیری بوده و دارای توارث‌پذیری بالایی هستند برای غربال جوامع گیاهی و بهبود عملکرد مناسب می‌باشد. به همین دلیل برآورد وراثت‌پذیری برای شروع یک برنامه اصلاحی کارآمد ضروری می‌باشد (۱۲). تجزیه ضرایب همبستگی بین صفات مختلف با عملکرد دانه به تصمیم‌گیری در مورد اهمیت نسبی این صفات و ارزش آنها به عنوان معیارهای انتخاب برای عملکرد کمک می‌کند (۲۹). از طرفی فرشادفر (۱۲) عنوان نمود مقدار تنوع موجود در گونه‌های گیاهی مبنای انتخاب مؤثر ارقام را فراهم می‌آورد و تغییرات ژنوتیپی مربوط به تفاوت ژنوتیپی میان افراد در داخل جمعیت بوده که هدف عمده اصلاح نباتات می‌باشد.

بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های مختلف انار توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است. ولکان و همکاران (۳۴) با بررسی ۱۷ رقم انار از منطقه بتلیس تنوع قابل توجهی در وزن میوه، طول میوه و عرض میوه که برای پرورش انار مهم هستند را گزارش نمودند. همچنین میر و همکاران (۲۳) با بررسی ده رقم انار از لحاظ ویژگی‌های مختلف فیزیکی میوه گزارش نمودند که صفات وزن میوه، قطر میوه و حجم میوه ضریب تغییرات بیشتری را نسبت به سایر صفات داشتند. مارس و ماراکچی (۲۱) نیز با انجام برخی مطالعات بر اساس مقایسات مورفولوژیک به منظور مشخص نمودن پلی‌مورفیسم درون ذخایر بومی انار، تنوع فنوتیپی قابل توجهی را در میان ژنوتیپ‌ها گزارش نمودند. آموروس و همکاران (۵) بر روی پنج کلون از انار مطالعه مورفولوژیکی از نظر میوه و دانه انجام دادند. آنها صفاتی مانند وزن میوه، قطر میوه، قطر تاج، طول میوه، طول تاج و ... را مورد ارزیابی قرار دادند. مطالعات آنها نشان داد که یکی از کلون‌ها به نام AD04 با $524/02$ گرم بزرگترین میانگین میوه را دارد که با سطح اطمینان ۹۵٪ تفاوت قابل ملاحظه‌ای با سایر کلون‌ها دارد. در نهایت آنها گزارش کردند اگر چه بزرگترین و سنگین ترین میوه‌ها مربوط به دو کلون ADO4 و PTO9 می‌باشد ولی کمترین عملکرد مربوط به این دو کلون است. کلون ADO4 و BA1 دارای کمترین شاخص رسیدگی می‌باشند. کلون ME15 دارای کوچکترین اندازه میوه اما بزرگترین میزان عملکرد می‌باشد که این مساله به این دلیل است که این کلون دارای بیشترین میزان شاخص رسیدگی است.

مطالعات بسیاری نیز بر روی خصوصیات کیفی و بیوشیمیایی انار انجام شده است. نتایج تجزیه واریانس بر روی صفات کمی و کیفی ۲۱ ژنوتیپ انار نشان‌دهنده اثر معنی‌دار ژنوتیپ در اکثر صفات مورد بررسی به جز درصد پوست، pH و میزان مواد جامد محلول بود. در مورد میزان تنوع در کل ژنوتیپ‌ها از بین صفات کیفی، بلندی تاج

دارای بالاترین ضریب تنوع بودند و اندازه دانه، درشتی میوه دارای کم‌ترین ضریب تنوع بودند. در بین صفات کمی نیز بیشترین ضریب تنوع برای وزن میوه و میزان اسیدیته بدست آمد و کم‌ترین ضریب تنوع مربوط به صفات pH، قطر دانه و طول میوه بودند (۳۲). بهاروند نیز (۷) با بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ۹ رقم انار در زنجان گزارش نمود که رقم دوستی حاوی بیشترین میزان TSS (۱۷ درصد بریکس) بود. بیشینه و کمینه pH به ترتیب متعلق به ارقام میخوش با میزان $4/3$ و ترش محلی با میزان $2/94$ ، بیشترین وزن ۱۰۰ دانه و وزن آبمیوه ۱۰۰ دانه مربوط به رقم ملس به ترتیب به میزان $42/55$ و $99/36$ گرم بود. مجموعاً ارقام دوستی، ملس و شهوار دارای میزان SST بالاتر، وزن ۱۰۰ دانه و آبمیوه بیشتری بودند و در نهایت نسبت به سایر ارقام مورد بررسی کیفیت بالاتری داشتند. کالیسکن و بیازیت (۱۱) نیز با جمع‌آوری و بررسی خصوصیات مورفولوژی و شیمیایی ۷۶ رقم انار از ترکیه گزارش نمودند که تنوع قابل توجهی برای این ویژگی‌ها وجود دارد و بیشترین تنوع مربوط به pH و رنگ میوه بود. فاتن و همکاران (۱۳) در بررسی تنوع ژنتیکی انار در تونس گزارش کردند که در میان ژرمپلاسما انارهای این منطقه تفاوت ژنتیکی و فنوتیپی معنی‌داری از نظر صفاتی چون اندازه میوه، رنگ و ویژگی‌های آبمیوه وجود دارد. مراداوگلو و همکاران (۲۸) با مطالعه بر روی ۴۶ ژنوتیپ انار از ترکیه برخی صفات مطلوب مرتبط با میوه مانند وزن میوه، ارتفاع میوه، قطر میوه، وزن میوه، طول و عرض تاج، محتوی مواد جامد میوه، اسیدیته و pH میوه، ارتفاع میوه و سختی دانه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که برخی از ژنوتیپ‌های بررسی شده از لحاظ خصوصیات میوه و همچنین صفات مربوط به درخت مانند عادت گلدهی، پکنواخت بودند.

همبستگی بین صفات مختلف کمی، کیفی و بیوشیمیایی انار نیز به عنوان معیاری برای درک بهتر ارتباط بین صفات و استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی محاسبه شده است. بساکی و همکاران (۹) گزارش نمودند که طول و عرض برگ همبستگی بالایی با یکدیگر و نیز با برخی خصوصیات گل مثل قطر گل و عرض گل داشتند. همچنین در میان صفات مورد مطالعه، طول گلبرگ بالاترین همبستگی را با ویژگی‌های دیگر از قبیل تعداد گلبرگ، تعداد کاسبرگ، طول گل، قطر گل، عرض گلبرگ داشت. ایمتیاژ و همکاران (۱۷) نیز با بررسی ۳۳ رقم انار نشان دادند که بین صفات ارتفاع بوته، تعداد میوه هر درخت، عملکرد هر درخت و عملکرد بهره‌وری همبستگی مثبت بالایی وجود دارد.

با توجه به گستره کشت و کار انار در مناطق مختلف کشور، بررسی تنوع موجود در ذخایر ژنتیکی انار می‌تواند از اهمیت بالایی برخوردار باشد. از طرفی بررسی تنوع ژنتیکی انار در مطالعات دیگر در تعداد معدودی از ژنوتیپ‌ها انجام شده است. لذا هدف تحقیق حاضر مطالعه تنوع ژنتیکی انار از مناطق مختلف کشور که در کلکسیون

رابطه (۱) محاسبه شد.

$$(۱) \quad \text{سود } ۰/۱ \text{ نرمال مصرفی} \times ۰/۰۰۷ \times ۱۰۰ = \text{اسیدیته کل} \times \text{وزن نمونه آب}$$

برای تعیین رسیدگی میوه، شاخص طعم (MI) به صورت تقسیم مقدار مواد جامد محلول (TSS) بر مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) برای میانگین ۵ عدد میوه در هر تکرار مورد استفاده قرار گرفت. نوع و غلظت آنتوسیانین‌های موجود در آب انار با استفاده از میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۰ نانومتر که در آن میزان آنتوسیانین سیانیدین بیشترین مقدار جذب را دارد اندازه‌گیری شد (۳۱، ۱۵، ۲۴ و ۱۸).

همچنین بر اساس وزن مولکولی سیانیدین و مقدار رقت مقدار تقریبی آنتوسیانین به صورت زیر (رابطه ۲) محاسبه گردید (۱۰ و ۲۲).

$$(۲) \quad C_{(mg/l)} = (A/\epsilon) \times M \times D \times 1000$$

که در این فرمول C میزان آنتوسیانین بر حسب میلی‌گرم در لیتر، A مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر (قرائت شده)، ϵ ضریب جذب مولی (۲۹۶۰۰)، M برابر با وزن مولکولی سیانیدین منوگلوکوزاید (۴۴۰)، D فاکتور رقت (که مقدار آن برابر است با ۳) و ۱۰۰۰ جهت برآورد مقدار حاصله در یک لیتر می‌باشند.

در نهایت تجزیه و تحلیل‌های آماری در صفت اندازه‌گیری شده با محاسبه میانگین، واریانس، حداقل، حداکثر و ضریب تغییرات برای بررسی میزان تنوع صفات با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. واریانس محیطی، واریانس ژنتیکی و واریانس فنوتیپی بصورت زیر (رابطه ۳) محاسبه گردید.

$$(۳) \quad \sigma_e^2 = MS_e \quad \sigma_g^2 = (MS_g - MS_e)/r \quad \sigma_{Ph}^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2$$

که σ_e^2 واریانس خطا و MS_e میانگین مربعات خطا، σ_g^2 واریانس ژنتیکی و MS_g میانگین مربعات ژنتیکی و r تعداد تکرار همچنین σ_{Ph}^2 واریانس فنوتیپی می‌باشد.

ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی بین صفات نیز محاسبه شدند. به منظور محاسبه همبستگی ژنتیکی، ابتدا ماتریس‌های واریانس-کوواریانس ارقام و خطای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار SAS بدست آمدند و سپس با توجه به فرمول زیر (رابطه ۴) همبستگی‌های ژنتیکی و فنوتیپی بین صفات محاسبه شدند.

$$(۴) \quad r_{ph(xy)} = \frac{\sigma_{Ph(xy)}}{\sqrt{\sigma_{ph(x)}^2 \times \sigma_{ph(y)}^2}}$$

انار ساوه جمع‌آوری شده‌اند، به کمک خصوصیات کمی و کیفی میوه آن می‌باشد. نتایج حاصل از این تحقیق، کمک شایانی در برنامه‌های اصلاحی ژنوتیپ‌های موجود در کشور خواهد نمود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با استفاده از ۳۶۰ ژنوتیپ موجود در کلکسیون انار ساوه که به صورت بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار کشت شده بودند انجام گردید. ابتدا از بین ژنوتیپ‌های موجود، تمامی ژنوتیپ‌ها با اسامی مشابه ولی کدهای متفاوت حذف گردیدند. سپس ژنوتیپ‌هایی که به دلیل شرایط نامساعد محیطی فاقد میوه بودند حذف شده و در نهایت ۱۵۶ ژنوتیپ باقیمانده جهت بررسی صفات فیزیکی و شیمیایی مرتبط با میوه، براساس توصیف‌نامه انار و دستورالعمل ملی انار (۳۰) مورد استفاده قرار گرفتند. از هر ژنوتیپ پنج نمونه گرفته شده و صفات قطر میوه، قطر تاج، طول میوه و طول تاج (میلی‌متر)، وزن میوه و وزن آریل (گرم)، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل (میلی‌متر)، وزن پوست میوه (گرم) و ضخامت پوست میوه (میلی‌متر) اندازه‌گیری شدند. همچنین صفات بیوشیمیایی شامل EC آب‌میوه، pH آب‌میوه، آنتوسیانین کل، اسیدیته قابل تیتراسیون (TA)، درصد مواد جامد محلول (TSS) با استفاده از عصاره ۵ عدد میوه که به طور تصادفی از هر ژنوتیپ انتخاب شدند و با در نظر گرفتن یک تکرار برای هر ژنوتیپ بصورت ذیل مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

مقدار pH و EC میوه، با استفاده از pH متر و EC متر برای ۵۰ میلی‌لیتر آب‌میوه صاف شده اندازه‌گیری شد. مواد جامد محلول (TSS) نیز با استفاده از رفراکتومتر دستی بر حسب بریکس اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره آب انار صاف شده با آب مقطر به حجم ۸۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقدار ۰/۳ میلی‌لیتر فنل فتالین به آن افزوده و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیترو گردید. به دلیل اینکه فنل فتالین در محیط بازی ارغوانی می‌شود و رنگ آب انار قرمز است ممکن است در تشخیص نقطه پایانی ایجاد خطا کند. بدین منظور تغییر pH محلول به ۸/۳ مبنا قرار گرفت. بدین منظور سود ۰/۱ نرمال به تدریج به محلول اضافه شده تا pH دقیقاً در ۸/۳ ثابت گردد. با توجه به اینکه هر میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۰۷ گرم اسید سیتریک است، در نهایت مقدار اسیدیته کل بر حسب اسید سیتریک از

$$r_{g(xy)} = \frac{\sigma_{g(xy)}}{\sqrt{\sigma_{g(x)}^2 \times \sigma_{g(y)}^2}}$$

توارث‌پذیری عمومی صفات نیز از نسبت واریانس ژنتیکی به واریانس فنوتیپی و ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنتیکی به ترتیب از نسبت جذر واریانس فنوتیپی و ژنتیکی به میانگین صفات برآورد شدند.

نتایج و بحث

با توجه به عدم معنی‌داری اثر بلوک‌ها در این تحقیق تجزیه و تحلیل واریانس بصورت طرح کاملاً تصادفی در جدول ۱ ارائه گردید. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در مورد صفات قطر میوه، قطر تاج، طول میوه، طول تاج، وزن میوه، وزن آریل، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل درون میوه، وزن پوست میوه، ضخامت پوست میوه در بین ارقام مورد بررسی در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱). میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر و ضریب تغییرات صفات در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج بیانگر این است که برای همه صفات مورد مطالعه تنوع زیادی در بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد. تفاوت بین مقدار حداقل و حداکثر (دامنه) هریک از صفات عدد بزرگی را نشان می‌دهد که حاکی از اختلاف زیاد بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مختلف می‌باشد. در بین ۹ صفت کمی، صفات تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل و ضخامت پوست میوه تنوع بیشتری نسبت به سایر صفات دارند. میزان ضریب تنوع در این صفات به ترتیب ۶۸/۴۳ و ۵۱/۱۶ درصد بود که مؤید این مطلب است. همچنین صفات طول و عرض میوه کمترین میزان تنوع را در بین صفات کمی میوه داشتند. در بین ۷ صفت بیوشیمیایی، صفات شاخص رسیدگی (طعم)، میزان آنتوسیانین و رنگ قابل جذب آبمیوه به ترتیب با ضریب تغییرات ۴۳/۰۲، ۳۸/۱۳ و ۳۸/۱۳ درصد دارای بیشترین تنوع بودند (جدول ۲). همچنین صفات pH و EC میوه کمترین میزان ضریب تغییرات را در بین صفات کیفی میوه داشتند (جدول ۲). به طور کلی دامنه تغییرات در صفات تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل، ضخامت پوست میوه، شاخص رسیدگی (طعم)، میزان آنتوسیانین و رنگ قابل جذب آبمیوه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی زیاد بوده، لذا این صفات می‌توانند مورد توجه به‌نژادگران قرار گیرند. در پژوهشی که روی پانزده رقم انار جمع‌آوری شده از باغ کلکسیون مرکز تحقیقات یزد انجام شد، متوسط غلظت ویتامین ث، TA، TSS و pH به ترتیب ۰/۰۸-۰/۴۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم، ۲/۰۵-۰/۴۲ درصد، ۱۸/۳-۱۲/۱ درجه بریکس و ۴/۰۸-۳/۰۵ گزارش شد (۸). سپهوند و همکاران (۳۲) نیز با مطالعه بر روی صفات کمی و کیفی ۲۱ ژنوتیپ انار نشان دادند که اثر رقم در اکثر صفات مورد بررسی به جز درصد پوست، pH، میزان مواد جامد محلول، شکل تاج‌میوه و شکل میوه معنی‌دار هستند. در مورد میزان تنوع در کل ژنوتیپ‌ها از بین صفات کیفی، وجود پاشنه در سطح تحتانی میوه، شکل پهنک‌برگ و بلندی تاج دارای بالاترین ضریب تنوع

بودند و اندازه دانه، درشتی میوه و زمان رسیدن میوه دارای کمترین ضریب تنوع بود. در بین صفات مورد نظر نیز بیشترین ضریب تنوع برای ویتامین ث، وزن میوه و میزان اسیدیته بدست آمد و کمترین ضریب تنوع مربوط به صفات pH، قطر دانه و طول میوه بودند.

با توجه به جدول ۲ کمترین وزن میوه به مقدار ۱۰۲/۳۳ گرم مربوط به ژنوتیپ میخوش پوست‌نازک و بیشترین وزن میوه با ۹۷۲/۶۷ گرم به ژنوتیپ اتابکی خفر چهارم تعلق داشت. بیشترین ضخامت پوست میوه به مقدار ۱۱/۲۶ میلی‌متر مربوط به ژنوتیپ ترش پوست قرمز شهداد و کمترین ضخامت پوست میوه مربوط به ژنوتیپ نرک رفسنجان به مقدار ۰/۷۱ میلی‌متر بود. بنابراین می‌توان برای افزایش ماندگاری پس از برداشت میوه از ژنوتیپ اتابکی چهارم در اصلاح ارقام پوست نازک که انبارمانی کمتری دارند استفاده نمود. بیشترین طول و عرض میوه به ترتیب به مقدار ۸۵/۵ و ۸۵/۶ میلی‌متر مربوط به ژنوتیپ طایی پوست سفید چترود ترش می‌باشد. کمترین طول و عرض میوه به مقدار ۳۶/۶ و ۴۰/۱۴ میلی‌متر مربوط به ژنوتیپ‌های شاهی چترود دانه قرمز و تخم موشی تفت می‌باشد.

بیشترین مقدار آنتوسیانین به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های بی‌هسته اردستان و شیرین هسته‌ریز شهداد به ترتیب به میزان ۵۱/۹۹ و ۴۴/۳۳ میلی‌گرم در لیتر و کمترین مقدار آنتوسیانین به میزان ۴/۰۵ میلی‌گرم در لیتر به ژنوتیپ ترش درجه ۱ سفیدپوست راور تعلق داشت. مقادیر آنتوسیانین به دست آمده از این آزمایش کمتر از مقادیر گزارش شده توسط موسوی نژاد و همکاران بود (۲۷). اختلافات مقادیر آنتوسیانین در ارقام مورد مطالعه می‌تواند مربوط به اختلاف در زمان برداشت و اختلاف در زمان انجام آزمایش باشد. این عوامل به طور معنی‌داری روی مقدار آنتوسیانین اثر دارد (۲۴). ثبات آنتوسیانین‌ها با دما، نور، pH و اکسیژن تغییر می‌کند و به تخریب توسط آنزیم‌های اکسیدکننده حساس است (۴).

کمترین میزان هدایت الکتریکی مربوط به ارقام نرک ترش بافق و کیانی سیرجان (به ترتیب ۲/۰۵ و ۲/۲۲ موس بر سانتی‌متر) و بیشترین میزان هدایت الکتریکی مربوط به ارقام دورگ بجستون ملس و پوست سفید خشک بافق (به ترتیب ۵/۹۲ و ۵/۵۷ موس بر سانتی‌متر) بود.

بیشترین مقدار pH به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های بریت معمولی کازرون و ترش پوست سفید شهداد به ترتیب به میزان ۴/۴۷ و ۴/۴ و کمترین مقدار pH به میزان ۳/۲ به ژنوتیپ ملس عقدایی تربت حیدریه و وحشی تمین خاش تعلق داشت. pH طعم اسیدی آب انار را مشخص می‌کند و هر چه پایین‌تر باشد مقدار اسید عمده‌ی آب انار (سیتریک اسید) بیشتر می‌گردد (۳). گارسیا و همکاران (۱۶) گزارش نمودند که افزایش مواد جامد محلول و کاهش pH آب میوه، تأثیر به‌سزایی در ماندگاری میوه پس از برداشت خواهد داشت.

جدول ۱- میانگین، حداقل، حداکثر، خطای معیار و ضریب تغییرات صفات مورد اندازه گیری در ۱۵۶ ژنوتیپ انار
Table 1- Mean, minimum, maximum, standard error and coefficient of variation of fruit traits for 156 pomegranate genotypes

صفات Traits	میانگین Mean	حداقل Minimum	حداکثر Maximum	اشتباه معیار Standard Error	ضریب تغییرات Coefficient of variation
طول تاج Calyx length (mm)	19.31	10.73	30.17	0.18	18.19
عرض تاج Calyx width (mm)	16.34	10.86	22.96	0.13	15.25
تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آرل Number of seed / 100 g Aril	92.09	10.67	325.33	2.77	68.43
ضخامت پوست میوه Peel thickness (mm)	2.33	0.71	11.26	0.05	51.16
وزن میوه Fruit weight(g)	325.49	102.33	972.67	6.1	41.01
طول میوه Fruit length(mm)	59.42	36.6	85.5	0.42	13.75
عرض میوه Fruit diameter (mm)	61.02	40.14	85.6	0.4	12.64
وزن پوست Peel weight(g)	17.42	11.47	42.45	0.14	21.49
وزن آرل Aril weight(g)	304.96	90.86	930.22	8.32	34.26
مواد جامد محلول Total soluble solids (%)	14.29	10	23	0.19	17.32
اسیدیته قابل تیتراسیون Titrable acidity (%)	1.33	0.42	2.8	0.03	28.6
شاخص رسیدگی Maturity index	11.84	4.2	33.33	0.4	43.02
اسیدیته pH	3.71	3.2	4.47	0.02	7.34
هدایت الکتریکی Electrical conductivity (mho/cm)	3.63	2.05	5.92	0.04	16.02
آنتوسیانین (mg/L) Antocyanin (mg/L)	25.94	4.05	51.99	0.79	38.13
رنگ قابل جذب آبمیوه Absorbable color of juice	0.58	0.09	1.16	0.01	38.13

ترتیب ۴/۲ و ۵/۴۹ بود. مقدار این شاخص تا حدودی به رقم و شرایط آب و هوایی نیز بستگی دارد (۲۰ و ۳). ملگارجو و همکاران (۲۲) طبقه‌بندی ارقام مختلف را با توجه به شاخص طعم انجام دادند؛ شاخص طعم در ارقام ترش ۵ تا ۷، در ارقام ملس ۱۷ تا ۲۴ و در ارقام

در این پژوهش، بالاترین میزان شاخص طعم مربوط به ژنوتیپ‌های شیرین معمولی بیرجند، شاهی دانه قرمز چترود و ملس نار آلوت بانه به میزان ۳۳/۳۳ و کم‌ترین میزان شاخص طعم مربوط به ژنوتیپ‌های ترش زودرس اردستان و ترش پوست سفید ساوه (به

برای وزن میوه و وزن آریل به ترتیب ۹۸/۲۳ و ۹۸/۲۲ بود که بیانگر وجود وراثت‌پذیری خوبی برای این صفات می‌باشد. این نتایج نشان می‌دهد که بازده ناشی از انتخاب برای این صفات در برنامه‌های اصلاحی بالا خواهد بود. میر و همکاران (۲۳) وراثت‌پذیری بالایی برای صفات ارتفاع بوته، وزن میوه، درصد تشکیل میوه، اسیدیته، عملکرد میوه، وزن پوست گزارش کردند. همچنین وراثت‌پذیری مناسبی را برای صفات قطر میوه، ضخامت پوست و وزن پوست گزارش نمودند.

طبق نتایج حاصل از تجزیه همبستگی ساده بین صفات (جدول ۴) بین عرض و طول میوه رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد (۰/۷۸). همچنین ارتباط معنی‌دار آماری نیز بین وزن میوه با صفات طول و عرض تاج، طول و عرض میوه، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل، وزن آریل و نیز ضخامت پوست میوه وجود دارد. با توجه به معنی‌دار بودن ضرایب همبستگی ژنتیکی این صفت با صفات فوق‌الذکر و نیز با توجه به وراثت‌پذیری بالای این صفت می‌توان عمل‌گزینش را برای هر کدام از صفات به منظور افزایش صفت دیگر انجام داد. به عبارت دیگر با مشاهده عرض تاج بزرگتر می‌توان پی برد که این میوه وزن بیشتری خواهد داشت. با توجه به پایین بودن وراثت‌پذیری طول و عرض تاج، بنابراین این صفت بسیار تحت تأثیر محیط می‌باشد و سهم ژنتیک در بروز این صفت و تنوع آن بسیار پایین است. اما با توجه به وراثت‌پذیری بالای تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل و ضخامت پوست میوه می‌توان نتیجه گرفت که این صفت کمتر تحت تأثیر محیط بوده و با انتخاب ژنوتیپ‌های با اندازه ضخامت بیشتر پوست و تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل بیشتر و نیز با وزن آریل بیشتر با انبارمانی بیشتر (ضخیم‌تر) جهت نگهداری به مدت طولانی اقدام نمود. این نتایج با تحقیق کریمی و همکاران (۱۹) مطابقت کامل داشت.

نکته قابل توجه اینکه با توجه به جدول ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی صفات کمی و ظاهری میوه از قبیل طول و عرض تاج، وزن میوه، تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل، طول و عرض میوه و وزن آریل با صفات کیفی اندازه‌گیری شده همچون آنتوسیانین، اسیدیته قابل تیتراسیون، پ‌هاس، هدایت الکتریکی و مواد جامد محلول ارتباط معنی‌دار آماری وجود نداشت (جدول ۴). بنابراین بدون در نظر گرفتن صفات کمی، صفات کیفی خاص هر ژنوتیپ بوده که می‌توان بدون توجه به ظاهر میوه اقدام به انتخاب ژنوتیپ‌های با صفات کیفی بالا جهت استفاده‌های مختلف دارویی (کنترل دیابت و آنتی باکتریال و قدرت باروری و...) و صنعتی (رنگ آمیزی و...) نمود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، دامنه وسیعی از تغییرات در بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده مشاهده گردید که نشان‌دهنده پتانسیل

شیرین ۳۱ تا ۹۸. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، از ۱۵۶ رقم مورد مطالعه ۳۰ رقم ترش و ۵ رقم شیرین و مابقی ملس می‌باشند. کمترین اسیدیته قابل تیتراسیون به مقدار ۰/۴۲ به ژنوتیپ‌های ملس نار آلوت بانه، شاهی دانه قرمز چترود، دورگ بجستون ملس، شیرین معمولی بیرجند و نرک ترش بافق و بیشترین آن (۲/۸) به ژنوتیپ‌های ترش پوست قرمز شهداد و ردکی دانه قرمز بافق تعلق داشت. کاهش در اسیدیته و افزایش قند باعث تغییر رنگ و آنتوسیانین‌ها می‌شود و رنگدانه‌های آنتوسیانینی تحت تأثیر تحول ساختاری قابل برگشت با تغییرات اسیدیته هستند (۲۰).

بیشترین مواد جامد محلول به مقدار ۲۳ واحد (درجه بریکس) مربوط به ژنوتیپ شیرین هسته‌ریز شهداد بود و کمترین آن (۱۰) مربوط به ژنوتیپ‌های انباری ترش کاشان، پوست سفید خشک بافق، طایی پوست سفید چترود ترش، ترش پوست سفید ساوه، ترش دورگ رفسنجان، شاهی ترش چترود (۲)، بافتی دورگ راور ملس، ترش پوست نازک ابرکوه، ترش پوست‌نازک رفسنجان، خورشی ترش حاجی آباد، ترش میناب، ترش پوست‌نازک بیرجند، ترش زودرس اردستان، شهوار میوه‌درشت زنجان و ترش دانه‌قرمز راور بود. بنابراین می‌توان از ژنوتیپ شیرین هسته‌ریز شهداد به عنوان والد ژنوتیپ‌های ترش جهت شیرین کردن آنها استفاده نمود که مطلوب مردم کشورهای اروپایی بوده و جهت صادرات این گونه ارقام، مهم می‌باشد. بنابراین میزان مواد جامد محلول در این آزمایش بین ۱۰ تا ۲۳ درجه بریکس بود در حالی که میزان مواد جامد محلول در سه رقم انار در آفریقای جنوبی بین ۱۴/۰۷ تا ۱۵/۱ درصد (۱۴) گزارش شده است که از میزان مواد جامد محلول ارقام انار در آزمایش حاضر کمتر می‌باشد، در حالی که اکبرپور و همکاران (۲) میزان مواد جامد محلول در برخی ارقام انار ایرانی را بین ۱۵/۱۷ تا ۲۲/۰۳ (درجه بریکس) گزارش دادند. زارعی و عزیزی (۳۵) گزارش دادند بین ارقام مختلف انار از نظر میزان مواد جامد محلول تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

برآورد اجزای واریانس، ضرایب تنوع و قابلیت‌توارث

نتایج برآورد اجزای واریانس، ضریب تنوع و قابلیت‌توارث صفات اندازه‌گیری شده در جدول ۳ آمده است. به طوری که ملاحظه می‌شود ضریب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی برای صفات تعداد دانه در آریل، ضخامت پوست میوه، وزن میوه و وزن آریل، بالا و به ترتیب ۶۶/۳۳ و ۴۳/۱۰، ۴۲/۶۶ و ۴۰/۸۶، ۶۹/۴۱ و ۴۰/۶۳، ۴۳/۴۳ و ۴۳/۰۴ می‌باشد که نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در بین نمونه‌های مورد مطالعه برای این صفات می‌باشد. همچنین صفات طول تاج، عرض تاج، طول و عرض میوه و وزن پوست میوه از تنوع پایینی برخوردار بودند (جدول ۳). قابلیت‌توارث عمومی برای تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آریل ۹۳/۳ و

ایده، از نظر شکل میوه، رنگ میوه و طعم نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کاملاً بارز و مطلوب بود. ژنوتیپ‌های برتر و نیز صفات مرتبط می‌تواند در برنامه‌ریزی‌های اصلاحی مد نظر قرار گیرند. بنابراین به‌نژادگران با در دست داشتن اطلاعات صحیح و دقیق از تنوع ژنتیکی گیاه مورد نظر می‌توانند با کارایی بیشتری نسبت به بهره‌برداری از منابع ژنتیکی اقدام کرده و مستقیماً به جمع‌آوری ذخایر توارثی مورد نیاز مبادرت ورزند.

ژنتیکی بالا در بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. براساس نتایج این تحقیق، ژنوتیپ شیرین هسته ریز شهداد با پوست سبز، از نظر سختی هسته کاملاً ریز دانه بود به طوری که در میوه‌های این درخت در هنگام خوردن دانه به هیچ عنوان سختی دانه در زیر دندان احساس نمی‌شد. بنابراین این صفت با توجه به نرم‌دانه و ریز بودن آن می‌تواند (با توجه به بازارپسندی و مطلوبیت برای مردم اروپا) در برنامه‌های بعدی هیبریداسیون در جهت انتقال صفت نرم‌دانه‌گی به ژنوتیپ‌های تجاری به عنوان والد مورد استفاده قرار گیرد و نیز ژنوتیپ دومزه باغ ملک

جدول ۳- برآورد اجزای واریانس، ضرایب تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی خصوصیات کمی میوه ژنوتیپ‌های انار
Table 3- Estimation of variance components, phenotypic, genotypic coefficient of variation and broadsense heritability for fruit quantitative traits in pomegranate

صفات Traits	وراثت‌پذیری عمومی Broad sense heritability(%)	ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		برآورد اجزای واریانس Estimation of components of variance		
		ژنوتیپی Genotypic	فنوتیپی Phenotypic	ژنوتیپی Phenotypic	محیطی Environment	ژنتیکی Genetic
طول تاج میوه Calyx length (mm)	60.45	15.96	20.53	15.4	6.09	9.31
عرض تاج میوه Calyx width (mm)	67.21	14.11	17.21	7.87	2.58	5.29
تعداددانه در ۱۰۰ گرم آریل Number of seed / 100 g aril	93.3	66.1	66.33	3610.78	25.27	3585.51
ضخامت پوست میوه Peel thickness (mm)	93	40.86	42.37	1	0.07	0.93
وزن میوه Fruit weight (g)	98.23	40.63	41	17509.4	309.7	17199.7
طول میوه Fruit length (mm)	71.94	13.07	15.41	84.12	23.6	60.52
عرض میوه Fruit diameter (mm)	66.77	11.54	14.12	74.16	24.64	49.46
وزن پوست میوه Peel weight (mm)	70.72	14.35	17.06	9.19	2.69	6.5
وزن آریل میوه Aril weight (g)	98.22	43.04	43.43	17546.67	311.67	17235

جدول ۴- ضرایب همبستگی فنوتیپی (بالای قطر) و ژنتیکی (زیر قطر) بین صفات مختلف در ژنوتیپ های مختلف انار
 Table 4- Phenotypical (above of diagonal), genetical (below of diagonal) correlation coefficient in pomegranate genotypes

Traits صفات	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1- طول تاج میوه Calyx length (mm)	1	0.18	0.07	0.13	0.19	0.3	0.27	-0.06	0.2	0	-0.01	-0.02	0	-0.02	0.13	0.13
2- عرض تاج میوه Calyx width (mm)	0.17	1	0.19	0.31	0.23	0.29	0.35	-0.09	0.23	0.06	0.04	0	0.01	-0.09	-0.07	-0.07
3- تعداد دانه در ۱۰۰ گرم آرل Number of seed / 100 g aril	0.05	0.18	1	0.29	0.44	0.23	0.31	-0.02	0.44	0	0	0.11	0.15	-0.08	-0.13	-0.13
4- ضخامت پوست میوه Peel thickness (mm)	0.11	0.29	0.26	1	0.27	0.09	0.16	-0.09	0.28	0.13	0.08	0.11	0.08	0.11	-0.01	-0.01
5- وزن میوه Fruit weight (g)	0.18	0.21	0.41	0.27	1	0.52	0.6	-0.12	0.9	0.04	0.13	-0.11	0.17	-0.02	-0.05	-0.05
6- طول میوه Fruit length (mm)	0.27	0.26	0.21	0.07	0.5	1	0.78	-0.01	0.53	-0.08	0.15	-0.23	0.02	0.1	0.07	0.07
7- عرض میوه Fruit diameter (mm)	0.24	0.31	0.3	0.16	0.58	0.76	1	-0.15	0.61	0.05	0.1	-0.09	0.06	-0.01	-0.01	-0.01
8- وزن پوست میوه Peel weight (mm)	-0.05	-0.07	-0.02	-0.07	-0.1	-0.01	-0.14	1	-0.15	-0.07	0.07	-0.12	0.0	-0.09	0.05	0.05
9- وزن آرل میوه Aril weight (g)	0.19	0.21	0.42	0.26	0.78	0.51	0.59	-0.13	1	0.06	0.14	0.27	0.1	-0.08	0.08	0.08
10- مواد جامد محلول Total soluble solids	-0.0	0.04	0.0	0.12	0.03	-0.07	0.04	-0.05	0.05	1	-0.11	-0.77	-0.18	-0.13	0.09	0.09
11- اسیدیته قابل تیتراسیون Titrable acidity	-0.01	0.02	0.0	0.06	0.11	0.13	0.08	0.06	0.12	0.1	1	-0.14	0.23	-0.09	-0.06	-0.06
12- شاخص رسیدگی Maturity index	-0.01	0.0	0.09	0.09	-0.08	-0.22	-0.07	-0.1	0.25	-0.74	-0.12	1	-0.14	-0.2	-0.11	-0.11
13- اسیدیته pH	0.0	0.01	0.12	0.06	0.15	0.02	0.04	0.0	0.08	-0.16	0.21	-0.13	1	0.12	0.03	0.03
14- هدایت الکتریکی Electrical conductivity (mho/cm)	-0.02	-0.07	-0.06	0.08	-0.02	0.07	-0.01	-0.06	-0.07	-0.11	-0.08	-0.18	0.11	1	0.11	0.14
15- آنتوسیانین Antocyanin (mg/L)	0.12	-0.06	-0.11	-0.01	-0.04	0.06	-0.01	0.04	0.06	0.08	-0.05	-0.1	0.02	0.1	1	0.98
16- رنگ قابل جذب آبمیوه Absorbable color of juice	0.1	-0.05	-0.12	-0.01	-0.04	0.05	-0.01	0.03	0.06	0.07	-0.04	-0.1	0.02	0.13	0.96	1

منابع

- 1- Ahmadi K., Gholizadeh H., Bahadorzadeh H., Hatami F., Hoseinpour R., Kazemifard R., and Abdshah H. 2016. Agricultural statistics. Ministry of Agriculture-Jahad, Iran. (In Persian)
- 2- Akbarpour V., Hemmati K., and Sharifani M. 2009. Physical and chemical properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit in maturation stage, American-Eurasian Journal of Agricultura and Environmental Science, 6(4): 411-416.
- 3- Al-Maiman S.A., and Ahmad D. 2002. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation, Food Chemistry, 76: 437-441.

- 4- Alighourchi H., Barzegar M., and Soleiman A. 2007. Anthocyanins characterization of 15 Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their variation after cold storage and pasteurization. *European Food Research and Technology*, 227(3): 881-887.
- 5- Amoros A., P. Melgarejo J., Hernandez F., and Martinez J. 1997. Characterization of the fruit of five pomegranate (*Punica granatum* L.) clones cultivated in homogeneous soils. *Universid Miguel Hernandez, Spain*.
- 6- Awamleh H., Hassawi D., Migdadi H., and Brake M. 2009. Molecular characterization of pomegranate (*Punica granatum* L.) landraces grown in Jordan using amplified fragment length polymorphism markers. *Biotechnology*, 83: 316- 322.
- 7- Bahaarvand N. 2012. Study of biochemical and morphological traits of Pomegranate cultivars in Zanjan Province. 7th Horticultural Sciences Congress, Isfahan university of Technology, Isfahan, Iran. (In Persian)
- 8- Barzegar M., Fadavi A., and Azizi T.M. H. 2004. Evaluation of physico-chemical composition of cultivated pomegranates in Yazd. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*, 1(2): 9-14. (In Persian)
- 9- Basaki T., Khayam Nekouei M., Choukanand R., and Mardi M. 2016. Evaluation of Iranian pomegranate collection using simple sequence repeat and morphological traits. *Crop Breeding Journal*, 67-78.
- 10- Borochoy-Neori H., Lazarovitch N., Judeinstein S., Patil B.S., and Holland D. 2011. Climate and salinity effects on health promoting and color properties in the pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit arils, p. 43-61. In: S. Bhimanagouda et al. (ed.) *Tropical and Subtropical Fruits: Flavors, Color, and Health Benefits*. American Chemistry Society.
- 11- Caliskan O., and Bayazit S. 2013. Morpho-pomological and Chemical Diversity of Pomegranate Accessions Grown in Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15: 1449-1460.
- 12- Farshadfar E. 1997. Methodology of plant breeding. Razi university of Kermanshah. Iran. (In Persian)
- 13- Faten Z., and Mars M. 2011. Diversity among Tunisian pomegranate (*Punica granatum*) cultivars as assessed by pomological and chemical traits. *International journal of Fruit Science*, 11(2): 151-166.
- 14- Fawole O.A., Opara U.L., and Theron K.I. 2011. Chemical and phytochemical properties and antioxidant activities of three pomegranate cultivars grown in South Africa. *Food Bioprocess Technology*, 5(7): 1-7.
- 15- Fawole O.A., and Opara U.L. 2013 Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. *Scientia Horticulturae*, 150: 37-46.
- 16- Garcia-Tejero I., Jimenez-Bocanegra J.A., Martinez G., Romero R., Duran Zuazoand V.H., and Muriel-Fernandez J. 2010. Positive impact of regulated deficit irrigation on yield and fruit quality in a commercial citrus orchard (*Citrus sinensis* L.) Osbeck, cv. Salustiano. *Agricualtural Water Management*, 97(5): 614-622.
- 17- Imtiyaz A.W, Bhat M.Y., Bandy F.A., Khan I.A., Hassan G.I., Abid A.L., and Bhat T.A. 2012. Correlation studies of morphological and economic traits in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Plant Architect*, 12: 943-946.
- 18- Jaiswal V., Der Marderosianand A., and Porter J.R. 2009. Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Food Chemistry*, 118: 11-16.
- 19- Karimi H.R., and Mirdehghan S.H. 2013. Correlation between the morphological characters of pomegranate (*Punica granatum*) traits and their implications for breeding. *Turkish Journal of Botany*, 37(2): 355-362.
- 20- Kulkarni A.P., and Aradhya S.M. 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93: 319-324.
- 21- Mars M., and Marrakchi M. 1999. Diversity of pomegranate (*Punica granatum* L.) germplasm in Tunisia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46: 461-467.
- 22- Melgarejo P., Martinez-Nicolas J.J., and Martinez-Tome J. 2000. Evolution of pomegranate juice anthocyanins during the ripening of fruit of three clones: ME16, VA1 and BA1. *Options Mediterraneennes: Serie A. Seminaires Mediterraneens*, 42: 123-127.
- 23- Mir M.M., Sofi A.A., Singh D.B., and Khan F.U. 2007. Evaluation of pomegranate cultivars under temperate conditions of Kashmir Valley. *Indian Journal Horticulture*, 64: 150-154.
- 24- Mirdehghan S.H., and Rahemi M. 2007. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. *Scientia Horticulture*, 111: 120-127.
- 25- Mohammadi S.A., and Prasanna B.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43: 1235-1248.
- 26- Morton J. 1987. *Fruits of warm climates*. Miami FL, USA.
- 27- Mousavinejad G, Emam-Djomeh Z., Rezaei K., and Haddad Khodaparast M.H. 2009. Identification and quantification of phenolic compounds and their effects on antioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars. *Food Chemistry*, 115: 1274-1278.
- 28- Muradoglu F., Fikret Balta M., and Ozrenk K. 2006. Pomegranate (*Punica granatum* L.) genetic resources from Hakkari, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2: 520-525.
- 29- Pour-Siahbidi M.M., Hoseinzadeh J., PourAboghadareh A.R., Bazdar A., and Naseri Rad H. 2013. Character association and path analysis of soybean (*Glycine max* L.) genotypes under water deficit stress. *International Journal of Biosciences*, 3(10): 126-132.

- 30- Sadeghian Motahar Y., and Jamali H. 2009. National Instruction of uniformity, distinctive and stability in pomegranate. Seed and Plant Certification of Registration Institute. (In Persian)
- 31- Sarkhosh A., Zmani Z., Fatahi R., and Ebadi A. 2006. RAPD Markers reveal polymorphism among some Iranian Pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. Science Direct Scientia Horticultural, 111: 24-29.
- 32- Sepahvand M. 2012. Evaluating of genetic variation some of pomegranate genotypes in province Lorestan. MSc Thesis Lorestan University. (In Persian)
- 33- Shahrabaki-Behzadi H. 2012. Variation and dispersion of pomegranate cultivars in Iran. Publication of Agricultural Education. (In Persian)
- 34- Volkan O., Akca Y., Ercisli S., and SGozlekci. 2015. Genotype selection for physico-chemical fruit traits in pomegranate (*Punica granatum* L.) In Turkey. Acta Science, 14(2): 123-132.
- 35- Zaarei A., and Azizi M. 2011. Evaluating of some of physical and chemical of six fruit cultivars in Iran. Journal of Horticultural Sciences, 24(2): 33-48. (In Persian)
- 36- Zarkti H., Ouabbou H., Hilali A., and Udupa S.M. 2010. Detection of genetic diversity in moroccan durum wheat accessions using agro-morphological traits and microsatellite markers. African Journal of Agricultural Research, 5(14): 1837-1844.



Evaluation of Genetic Variation and Heritability of Some Fruit Traits in Pomegranate Genotypes

B. Moradi Ashour¹- M. Rabiei^{2*}- B. Shiran³- S. Hooshmand⁴

Received: 03-10-2017

Accepted: 24-10-2018

Introduction: Pomegranate (*Punica granatum* L., Punicaceae family), a native Iranian horticultural plant, is used as fresh fruit and also for other products and has special economic position in the world. It is estimated that pomegranate fruit production in Iran was about 900000 tons in 2016 which provinces of Fars, Markazi, Khorasan, Yazd and Isfahan had the highest production respectively. Iran is the center of diversity and most probably center of origin of Pomegranate, so during the years, many attempts have been done to collect different genotypes. The National Research Station of Pomegranate of Saveh has three set collections including 760 genotypes collected from all around of Iran. Assessment of genetic variation among these genotypes to use in breeding programs should be considered as first priority. Researchers use different methods to measure genetic diversity of plants including DNA markers, isozymes and morphological traits. Using morphological characteristics that are easily measured and have high heritability is a convenient tool to assess the amount of genetic diversity of plants.

Material and Methods: In order to determine genetic variation and heritability on morpho-pomological traits, pomegranate genotypes were selected from different habitats of Iran that are already planted in the collection of National Research Station of Pomegranate of Saveh in 2016. Genotypes that had similar descriptor or genotypes that had not sufficient fruit to get involved in the experiment, were excluded. Selected genotypes (156 genotypes) were evaluated based on a completely randomized design with three replications using nine morphological traits including length of calyx, width of calyx, number of seed in 100-gram aril, thickness of peel, weight of fruit, length of fruit, width of fruit, weight of peel, weight of aril. Biochemical characteristics of fruit including total soluble solids, titrable acidity, maturity index, pH, EC, anthocyanin content and absorbable color of juice were measured for each genotype without replication (five fruit were selected randomly for each genotype). Statistical analyses including analysis of variance, correlation coefficient, and broad sense heritability, phenotypic and genotypic coefficient of variation were estimated using SAS 9.0 software.

Results and Discussion: Analysis of variance showed that the effect of genotypes in each trait is highly significant (p -value=0.01), indicating a wide variation among these genotypes. Considering range for each trait reveals remarkable differences between genotypes especially for number of seed in 100-gram aril and anthocyanin content. Results showed that among 9 morphological traits, aril seed ($\text{g } 100 \text{ aril}^{-1}$) and peel thickness, also among 7 chemical traits, anthocyanin content, absorbable color of juice and maturity index had the highest variation. The most positive and significant correlation coefficients was observed between fruits weight with length and diameter of fruit, length and diameter of calyx, aril weight, seed number ($\text{g } 100 \text{ aril}^{-1}$) and peel thickness. Correlation between qualitative and quantitative traits were not significant. The highest phenotypic and genotypic coefficient of variation was observed on fruit weight, peel thickness, seed number ($\text{g } 100 \text{ aril}^{-1}$) and aril weight. A high broad sense heritability was observed for aril weight ($\text{g } 100 \text{ aril}^{-1}$), fruit weight and peel thickness.

Conclusion: Based on the results of this study, there was a high genetic variation among genotypes for most traits. As it was expected, Iranian collection of pomegranate is a rich source for this plant and highly supporter for other breeding researches. High correlation coefficient of fruit weight with other morphological traits is useful for early selection of high performance genotypes. For instant, genotypes with high diameter of calyx most probably will produce high yield. There was not statistically significant correlation between morphological and biochemical characteristics. That is to say genotypes with low yield should not be excluded in further research programs because of their beneficial biochemical traits; they can be involved in crosses with high yield genotypes to improve their

1, 2, 3 and 4- Ph.D. Graduated, Assistant Professor and Professors, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahrood University, Iran, Respectively

(*)- Corresponding Author Email: rabiei@sku.ac.ir

biochemical characteristics. Pomnorate genotypes with good quality traits are also useful for industrial, pharmaceutical and nutraceutical purposes. Results of our experiment indicate that due high broad sense heritability of aril weight, fruit weight, peel thickness and aril weight, environmental effect on these traits is less than genetic effect. Therefore, selection based on these traits could successfully be used to improve genetic base of pomegranate genotypes in the next generations. Also based on the results of this research Hasteriz- Shahdad and Domaze- Izeh genotypes were the best for soft seed, color and flavor fruit.

Keywords: Broad sense heritability, Correlation, Genetic variation, Pomegranate



مدیریت رشد و گل دهی شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum*)

در فضای رشد محدود باغ شیشه‌ای (ترازیوم)

عزیزاله خندان میرکوهی^{۱*} - سیده راضیه واعظ موسوی^۲ - احمد خلیقی^۳ - روح انگیز نادری^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

چکیده

این پژوهش به منظور مدیریت رشد و بهبود کیفیت گل دهی شمعدانی (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey) در باغ شیشه‌ای (ترازیوم) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار و ۱۵ تیمار تنظیم کننده رشد انجام شد. گیاهان شمعدانی در ابتدا با دو نوع کند کننده رشد شامل کلرمکوات کلرید (سایکوسل) در غلظت صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر و پاکلوبوترازول در غلظت صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر و سپس برای مدیریت گل دهی با غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین تیمار شدند. ویژگی‌های رویشی، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی و همین‌طور ویژگی‌های مربوط به گل دهی ارزیابی شد. هر دو کند کننده رشد در غلظت بالا منجر به کاهش معنی دار ارتفاع شدند، در حالی که در مورد صفات قطر ساقه، تعداد برگ و سطح برگ پاکلوبوترازول باعث کاهش معنی دار نسبت به شاهد شد ولی سایکوسل تأثیر معنی داری نشان نداد. هم چنین کاربرد کند کننده‌های رشد باعث کاهش معنی دار رنگیزه‌های برگ شامل، کلروفیل‌ها و نیز آنتوسیانین‌ها شد. کاربرد بنزیل آدنین به تنهایی و در اثر متقابل با کند کننده‌های رشد باعث افزایش میزان کلروفیل‌های برگ شد. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح برگ و نیز قطر ساقه صفاتی بودند که در اثر بنزیل آدنین در مقایسه با کاربرد کند کننده‌های رشد افزایش نشان دادند در حالی که سایر صفات تحت تأثیر تیمار بنزیل آدنین قرار نگرفتند. به طور کلی، تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول و بدون نیاز به بنزیل آدنین باعث بهبود شاخص‌های تولید گیاه شمعدانی شد.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، پاکلوبوترازول، تنظیم کننده رشد، سایکوسل، گلکاری، گیاهان زینتی، گیاهان گلدانی

مقدمه

یکنواختی در ارتفاع آنهاست که برای رسیدن به این هدف از فنون خاصی از جمله از روش‌های شیمیایی و غیر شیمیایی استفاده می‌شود. روش‌های غیر شیمیایی با بهره‌گیری از پتانسیل ژنتیکی ارقام در ایجاد پاکوتاهی و یا با تغییر فاکتورهای رشد و عوامل محیطی مانند تغییر شدت، کیفیت و مدت زمان نوردهی و یا تغییر میانگین دما و اختلاف دمای شبانه‌روز و هم چنین ایجاد محدودیت در محیط کشت و استرس آبی و تغذیه‌ای تا سطحی که کیفیت گیاه را تحت تأثیر قرار ندهد امکان پذیر می‌باشند. استفاده از محدودیت تغذیه با فسفر برای کنترل ارتفاع در گیاهان زینتی گل جعفری (*Tagetes patula* L.)، گل حنا (*Impatiens walleriana* Hook.) و شمعدانی (*Pelargonium hortorum* cv. Bulles Eye) گزارش شده است (۶ و ۱۵). محدودیت در محیط ریشه نیز از جمله یکی از روش‌های کنترل رشد به‌ویژه در تولید بنسای مورد توجه است. اما روش‌های شیمیایی کنترل ارتفاع با استفاده از ترکیبات کند کننده رشد انجام می‌شود، این ترکیبات با کاهش تولید جیبرلین رشد طولی سلول و در نتیجه رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۴).

کشت انواع گیاهان برگ زینتی در باغ شیشه‌ای (ترازیوم) مرسوم است، ولی استفاده از گیاهان گلدان در چنین محیطی مشکل بوده و بندرت مشاهده می‌شود. شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum*) که به شمعدانی باغی نیز معروف است، یکی از محبوب‌ترین گیاهان گلدانی است که در اکثر مواقع سال می‌تواند گل داشته باشد و شاید بتوان با مدیریت رشد و گل دهی از آن به عنوان یک گیاه مطلوب در ترازیوم استفاده نمود (نگارنده). این گیاه از جمله شناخته شده‌ترین گیاهان گلدانی و باغچه‌ای است که در بین ۲۵ گیاه باغچه‌ای محبوب در دنیا جایگاه اول را داراست (۹).

امروزه یکی از اهداف تولید کنندگان تجاری محصولات باغبانی تولید گیاهانی با کیفیت یکنواخت از لحاظ مورفولوژیکی است، یکی از فاکتورهای مؤثر در تولید بسیاری از گیاهان زینتی مدیریت و کنترل

۱، ۲، ۳ و ۴ - به ترتیب استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادان گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشگاه تهران

* - نویسنده مسئول: (Email: khandan.mirkohi@ut.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.69721

پاکلوبوترازول^۱ با نام تجاری بونزای^۲ و کلرمکوات کلرید^۳ با نام تجاری سایکوسل^۴ از جمله کندکننده‌های رشد شیمیایی مرسوم هستند که جهت کنترل ارتفاع برخی گیاهان زینتی گلدانی به کار برده می‌شوند (۴). البته تولید کننده باید براساس نوع محصول، هزینه، نیاز بازار و میزان کاهش رشدی که مد نظر است روش مناسب را انتخاب کند.

سایتوکینین‌ها یکی دیگر از پنج گروه اصلی تنظیم کننده‌های رشد هستند که تأثیرات مختلفی از جمله از سرگیری رشد جوانه‌ها و از بین بردن خواب جوانه، ارتقا جوانه‌زنی بذر (۱۹) افزایش شاخه‌های جانبی (۳۱)، بهیود گل‌دهی (۱۸)، تأخیر و یا جلوگیری از زردی و پیری برگ‌ها، افزایش عمر پس از برداشت گل‌ها، تشکیل و رشد برگ و گل (۱۳) را می‌توانند در گیاهان ایجاد کنند. بنزیل آدنین از جمله سایتوکینین‌های مصنوعی است که کاربردهای زیادی در کشاورزی و باغبانی دارد. این ماده می‌تواند با تأثیر بر تحریک رشد شاخه‌های جانبی جدید، بر تعداد گل و طول دوره گلدهی اثرگذار باشد (۲۳).

بنابراین با توجه به اهمیت گیاه زینتی شمعدانی از نظر محبوبیت عمومی و طول دوره گلدهی قابل توجه آن، امکان مدیریت رشد و گلدهی این گیاه در شرایط رشد محدود در باغ شیشه‌ای (تراریوم) طی آزمایشی با کاربرد ترکیبات کند کننده‌ی رشد سایکوسل و پاکلوبوترازول با توجه به اثر آنها بر رشد و کاربرد بنزیل آدنین با توجه به امکان اثر آن در کیفیت گلدهی شمعدانی ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ در گلخانه و آزمایشگاه گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در شهر کرج در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. تیمار کندکننده رشد شامل پاکلوبوترازول در غلظت‌های صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر و سایکوسل در غلظت‌های صفر، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر و تیمار بنزیل آدنین مرتبط با گلدهی در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر بودند.

ابتدا بذور شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Horizon') در پاییز ۱۳۹۴ در سینی کشت حاوی پیت ماس کاشته شد و تغذیه نشاها با محلول غذایی هوگلند تغییر یافته که در آن میزان فسفر تقلیل داده شده بود، انجام شد (۱۵). گیاهچه‌های حاصل در مرحله ۲ تا ۴ برگ به ظروف شیشه‌ای با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر (باغ شیشه‌ای یا تراریوم) منتقل

شدند. مراحل مرسوم تهیه تراریوم از جمله ایجاد زهکش، قرار دادن لایه جداکننده و اضافه نمودن بستر کشت قبل از انتقال نشا انجام شد. بستر کشت مورد استفاده در تراریوم مخلوطی از پیت ماس (۷۰ درصد حجمی)، پرلیت ریز (۱۰ درصد حجمی) و خاک لوم (۲۰ درصد حجمی) بود. تغذیه گیاهان در تراریوم حسب نیاز گیاه با محلول غذایی ذکر شده انجام شد. میانگین دمای روزانه گلخانه 25 ± 3 و دمای شبانه 18 ± 3 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی گلخانه 70 ± 5 و شدت نور به طور تقریبی ۵۰۰ میکرومول بر ثانیه بر متر مربع بود. تیمار کندکننده رشد شامل پاکلوبوترازول و سایکوسل یک ماه بعد از انتقال و استقرار گیاهان و در مرحله ۴-۶ برگ به شکل محلول پاشی (بهمن ۱۳۹۴) اعمال شد. تیمار بنزیل آدنین مرتبط با گلدهی نیز به شکل محلول پاشی در اردیبهشت ۱۳۹۵ اعمال شد.

ارزیابی رشد گیاه با مقایسه صفاتی از قبیل ارتفاع گیاه از سطح خاک تا جوانه انتهایی توسط خط‌کش و برحسب سانتی‌متر و شمارش تعداد برگ‌ها و شاخه‌های جانبی، سطح برگ گیاهان با استفاده از دستگاه (England Leaf area meter ΔT)، قطر ساقه با استفاده از کولیس و برحسب میلی‌متر انجام شد. در پایان آزمایش کل بخش هوایی گیاه از سطح خاک بریده شد و ریشه‌ها نیز جدا گردیدند و بلافاصله وزن تر بخش هوایی و ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری و ثبت شده سپس به خشک‌کن (آون) ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل و پس از ۴۸ ساعت وزن خشک اندازه‌گیری شد. صفات مرتبط با گلدهی از جمله زمان تا گلدهی بر حسب روز از زمان انتقال نشا تا شروع گل‌دهی محاسبه شد. طول دمگل نیز با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شده و سپس تعداد گل در هر گل آذین شمارش شد. شاخص آنتوسیانین‌های برگ مطابق روش واگنر (۲۹) و محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدهای برگ مطابق روش آرنون (۱) و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر مدل Bio Quest, CE 2502 UK) اندازه‌گیری شد.

جهت مقایسه اثر محدودیت فضای کشت در رشد، علاوه بر وجود شاهد در سطوح تیمار در شرایط تراریوم تعدادی گیاه در گلدان نیز کشت گردید و همه صفات در این گروه از گیاهان نیز ارزیابی شد. مقایسه گیاهان دو گروه شاهد در داخل و خارج از محیط رشد محدود از طریق آزمون t مستقل و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) انجام شد. داده‌های حاصل از آزمایش مرتبط با تیمارها در شرایط تراریوم با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۳) تجزیه آماری و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

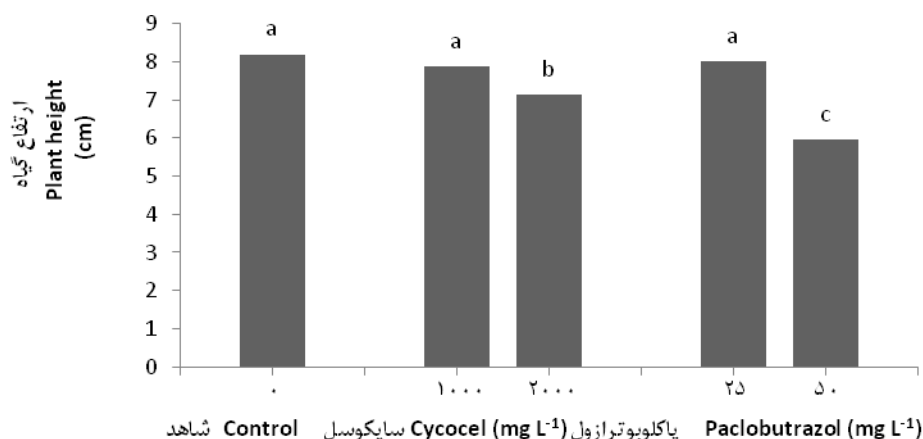
نتایج و بحث

اثر کندکننده‌های رشد بر شاخص ارتفاع در سطح یک درصد

- 1- Paclobutrazol
- 2- Bonzi
- 3- Chlomequat chloride
- 4- Cycocel

شد که از نظر بصری قابل قبول نبود (۳۰). نتایج تیمار تنظیم کننده‌های رشد بر زنبق سیاه (*Iris nigricans*) نیز کاهش معنی‌دار ارتفاع ساقه را بر اثر تیمار پاکلوبوترازول و همین‌طور سایکوسل نشان داد، در این آزمایش هم تیمار پاکلوبوترازول اثر کاهشی بیشتری در مقایسه با سایکوسل اعمال کرده است (۲). طی بررسی پاسخ گیاه کورئوپسیس (*Coreopsis verticillata*) و کوکب کوهی (*Rudbeckia fulgeri*) به ترکیبات کندکننده رشد نیز مشخص شد که سایکوسل بر کنترل ارتفاع گیاه کوکب کوهی تأثیری نگذاشته است، در حالی که درمورد گیاه کورئوپسیس افزایش غلظت سایکوسل منجر به افزایش کنترل ارتفاع شده است (۳). بنزیل آدنین به عنوان یک سایتوکینین مصنوعی از نظر تأثیر بر صفات رویشی و گل‌دهی اثرات متفاوتی می‌تواند داشته باشد و این تا حد زیادی به گونه گیاهی و زمان کاربرد این ترکیب بستگی دارد. به عنوان مثال کاهش معنی‌دار ارتفاع ساقه آمون در پاسخ به تیمار بنزیل آدنین گزارش شده است (۲). این در حالی است که در آزمایشی این ترکیب اثری بر طول ساقه گیاه و گل‌دهی شیپوری (*Zantedeschia spreng*) نگذاشته است (۱۴).

معنی‌دار بود، درحالی که بنزل آدنین و نیز اثر متقابل آن با کندکننده‌های رشد تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر ارتفاع نداشت. بیشترین کاهش ارتفاع مربوط به تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر و سپس سایکوسل ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر بود (شکل ۱)، به ویژه کاربرد این غلظت بدون استفاده از بنزیل آدنین منجر به ایجاد کوتاه‌ترین گیاهان شد اما غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول اختلاف معنی‌داری با شاهد ایجاد نکرد. کاهش معنی‌دار ارتفاع در شمعدانی با کاربرد تریازول‌ها و ازجمله پاکلوبوترازول در گذشته نیز گزارش شده است (۲۸). نتیجه مشابه طی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر گیاه استئوسپرموم (*Osteospermum ecklonis*) نیز گزارش شده است (۲۲). در پژوهشی که روی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر چهار گونه گیاه آپارتمانی پیچ سوئدی (*Plectranthus verticillatus*)، شفلرا (*Schefflera actinophylla*)، کروتون (*Codiaeum variegatum*) و سینگونیم (*Syngonium podophyllum*) انجام شد نشان داد که تریازول‌ها و به ویژه پاکلوبوترازول بر کنترل رشد و کاهش طول ساقه هر چهار گونه گیاهی مؤثر بودند ولی کاربرد پاکلوبوترازول درمورد گیاه پیچ سوئدی منجر به پاکوتاهی بیش از حد



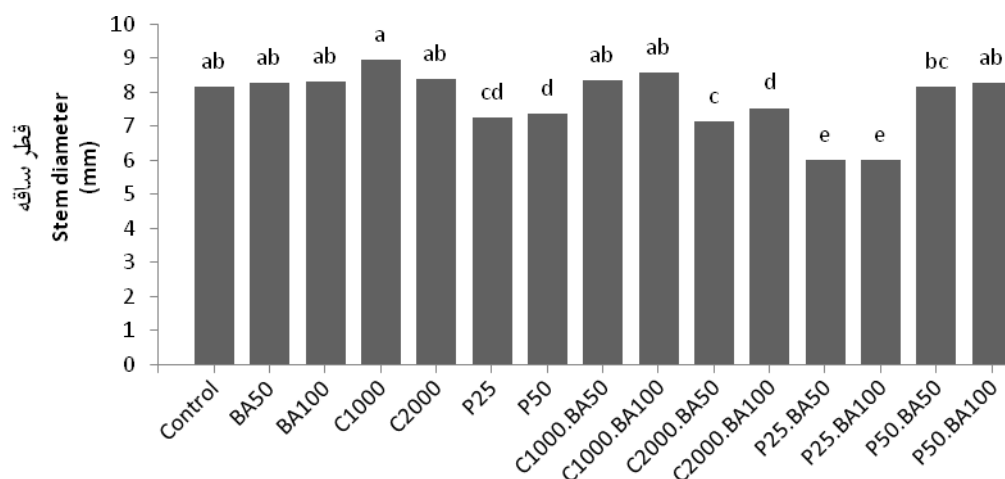
شکل ۱- اثر کندکننده‌های رشد سایکوسل (CCC) و پاکلوبوترازول (PBZ) در مقایسه با شاهد (Control) بر ارتفاع شمعدانی در شرایط تراریوم LSD ($p \leq 0.05$)

Figure 1- Effect of Cycocel (CCC) and Paclobutrazol (PBZ) compared with control on height of Geranium under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)

در مقایسه با گیاهانی که در شرایط معمول کشت شده و رشد کردند، نشان دادند (۷). هم چنین اثر محدودسازی ریشه بر کاهش اندازه گیاه سلوی (*Salvia splendens*) نیز گزارش شد (۱۱). کاهش رشد بر اثر کاهش فضای در دسترس ریشه در بسیاری از محصولات باغبانی شامل سبزیجات و گیاهان زینتی و نیز درختان جنگلی مورد بررسی قرار گرفته و در اکثر موارد باعث کاهش قابل ملاحظه در رشد شده است (۲۴). به طور کلی محدودیت محیط کشت و فضای در دسترس ریشه می‌تواند بر تمام ویژگی‌های مورفولوژی و همچنین گل‌دهی

مقایسه بین گیاهان بدون تیمار تنظیم کننده‌های رشد در داخل و خارج محیط محدود نشان داد که محدود سازی محیط کشت گیاه اثر قابل ملاحظه‌ای بر کاهش ارتفاع و کنترل رشد در شمعدانی داشته است این اختلاف ارتفاع در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). طی بررسی اثر اندازه محیط کشت بر گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) مشخص شد که ارتفاع و همین‌طور گسترش گیاه به میزان قابل توجهی تحت تأثیر اندازه محیط کشت قرار می‌گیرد و گیاهانی که در ظروف محدود تر رشد کردند کاهش ارتفاع معنی‌داری

تشدید کرد. کمترین قطر ساقه مربوط به غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول به همراه بنزیل آدنین بود (شکل ۲). کاهش معنی دار قطر ساقه گیاه کنسولیدا (*Consolida orientalis*) نیز با کاربرد پاکلوبوترازول گزارش شده است (۱۷). قطر ساقه در مقایسه بین شاهد گیاهان درون شیشه با گیاهان در خارج از محیط محدود نشان دهنده کاهش معنی دار قطر ساقه بر اثر محدودسازی محیط ریشه است که این اثر کاهشی در سطح ۱ درصد معنی دار شد.



شکل ۲- اثر اصلی و برهمکنش بنزیل آدنین (BA) در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، سایکوسل (C) در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر و پاکلوبوترازول (P) در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد (Control) بر قطر ساقه شمعدانی در شرایط تراریوم. LSD ($P \leq 0.05$)

Figure 2- Effect of Banzyleadenine (BA; 50 and 100 mg L⁻¹), Cycocel (C; 1000 and 2000 mg L⁻¹) Paclobutrazol (P; 25 and 50 mg L⁻¹), and their interactions compared with control on stem diameter of Geranium under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)

قابل ملاحظه‌ای بر سطح برگ داشت. کمترین سطح برگ گیاهان در بین تیمارها مربوط به تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۲۵ میلی گرم در لیتر مشاهده شد درحالی که تیمار سایکوسل به ویژه در غلظت بالا برخلاف پاکلوبوترازول، به تنهایی و در اثر متقابل با بنزیل آدنین باعث افزایش معنی دار سطح برگ شد. کاهش معنی دار تعداد برگ گیاه شفلرا در اثر کاربرد پاکلوبوترازول به عنوان یک تنظیم کننده تریازولی گزارش شده است (۳۰). کاهش سطح برگ گل جعفری (*Tagetes erecta*) نیز در پاسخ به پاکلوبوترازول معنی دار گزارش شده است و این اثر کاهشی در غلظت پایین نیز مشاهده شده است (۲۶). تقسیم سلولی در لایه‌های مرستمی برگ باعث افزایش سطح برگ می‌شود. پاکلوبوترازول با کاهش سطح جیبرلین میزان تقسیم سلولی در صفحات مرستمی برگ را کاهش می‌دهد و باعث کاهش سطح برگ می‌شود (۳۲). تأثیر محدودسازی محیط ریشه بر کاهش تعداد و همین‌طور سطح برگ در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است، در همهی این گیاهان همچنان که حجم ریشه کاهش می‌یابد، گسترش برگ از لحاظ تعداد و اندازه برگ نیز کاهش می‌یابد.

اثرگذار باشد، این محدودیت بر اندام هوایی تأثیر قابل ملاحظه‌ای دارد زیرا منجر به بهم خوردن تعادل در تبادلات بین ریشه و اندام هوایی می‌شود که این تبادلات عموماً به صورت اثر بر رشد گیاه بروز می‌کند (۲۰).

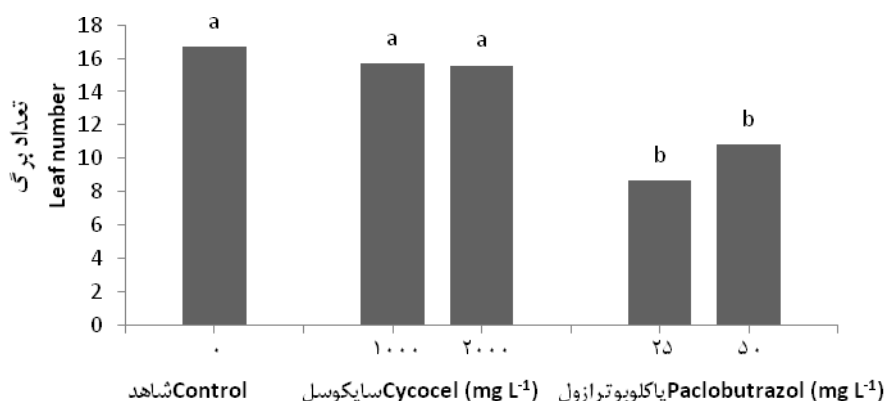
در این پژوهش تأثیر تنظیم کننده‌های رشد بر قطر ساقه باعث کاهش معنی دار قطر ساقه در سطح ۱ درصد شد این در حالیست که اثر متقابل بنزیل آدنین و کندکننده‌های رشد این کاهش قطر ساقه را

نتایج نشان داد که کاربرد پاکلوبوترازول منجر به کاهش معنی دار تعداد برگ‌های شمعدانی شد، کاربرد بنزیل آدنین به ویژه در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش تعداد برگ نسبت به شاهد شد، اما این اثر افزایشی اختلاف معنی داری با شاهد ایجاد نکرد (شکل ۳). اثر متقابل بنزیل آدنین و کندکننده‌های رشد نیز تأثیر قابل ملاحظه‌ای برای این صفت نداشت. درحالی که کاربرد کند کننده پاکلوبوترازول اثر کاهشی بر تعداد برگ شمعدانی داشت و این فاکتور رشدی را به طور معنی داری کاهش داد هم چنین مقایسه گیاهان شاهد درون محیط محدود با گیاهان رشد یافته در شرایط معمول نیز نشان داد که محدودسازی بستر رشد اثر قابل ملاحظه‌ای بر کاهش تعداد برگ داشت و اختلاف تعداد برگ بین این دو گروه در سطح ۵ درصد معنی دار شد. کاهش تعداد و سطح برگ شمعدانی بر اثر کاربرد پاکلوبوترازول پیش‌تر نیز گزارش شده است (۸).

سطح برگ گیاهان در شرایط معمول، بیشتر از شرایط محدود بود. به عبارتی، بیشترین سطح برگ مربوط به گیاهان شاهد در خارج از محیط محدود بود و این نشان داد که محدودسازی محیط ریشه اثر

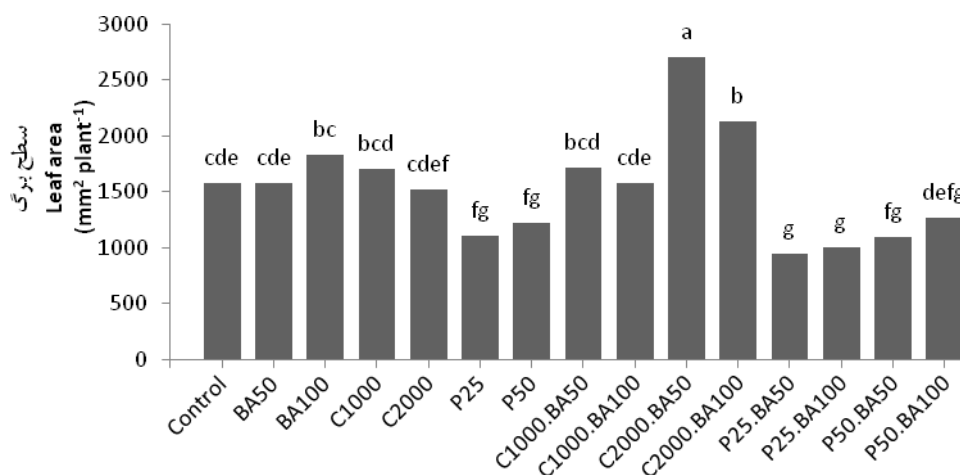
قرار نگرفت (۱۴). برگ‌ها اندام‌های فتوسنتزی هستند که قندهای ضروری را برای رشد و انتقال به مرحله زایشی فراهم می‌کنند. سایتوکینین‌ها در کنترل رشد و تشکیل برگ‌ها و همچنین گل‌ها نقش مهمی دارند (۱۳). بنزیل آدنین نیز نوعی سایتوکینین است که می‌تواند با افزایش نمو کلروپلاست منجر به تحریک رشد برگ‌ها و تعداد برگ‌ها شود (۲۷)، اما نوع اثر آن بستگی به غلظت و فصل کاربرد آن دارد (۱۳). به‌عنوان مثال تعداد برگ در لیلیوم با کاربرد بنزیل آدنین به‌طور معنی‌دار افزایش یافته (۲۷)، اما در بررسی اثر بنزیل آدنین و جیبرلین بر رشد و گل‌دهی آمون اثر کاهشی بنزیل آدنین بر تعداد برگ‌های آمون (*Anemone coronaria*) گزارش شد (۱۳).

از جمله این گیاهان، سلوی، اسفناج، شمشاد، گوجه فرنگی و سویا را می‌توان نام برد (۲۰). کاهش معنی‌دار سطح برگ بر اثر کاهش اندازه گلدان در گیاه سلوی نیز گزارش شده است (۱۱). هم‌چنین محدودسازی محیط ریشه به‌طور قابل ملاحظه‌ای تعداد و سطح برگ در گوجه فرنگی نیز کاهش داد (۷). اما همان‌طور که گفته شد، بنزیل آدنین می‌تواند اثرات متفاوتی بر رشد رویشی و گل‌دهی داشته باشد. در آزمایش حاضر نیز بنزیل آدنین در اثر متقابل با سایکوسل اثر افزایشی قابل ملاحظه‌ای بر سطح برگ داشت (شکل ۴). بنزیل آدنین و به احتمال سایر سایتوکینین‌ها نیز در گونه‌های مختلف اثرات یکسانی از لحاظ سطح و تعداد برگ به جای نمی‌گذارند، به عنوان مثال بازده برگ‌ها در گیاه شیپوری تحت تأثیر کاربرد بنزیل آدنین



شکل ۳- اثر کندکننده‌های رشد سایکوسل (CCC) و پاکلوبوترازول (PBZ) در مقایسه با شاهد (Control) بر تعداد برگ شمعدانی در شرایط تراریوم (LSD ($P \leq 0.05$))

Figure 3- Effect of Cycocel (CCC) and Paclobutrazol (PBZ) compared with control on leaf number of Geranium under terrarium conditions LSD ($P \leq 0.05$)

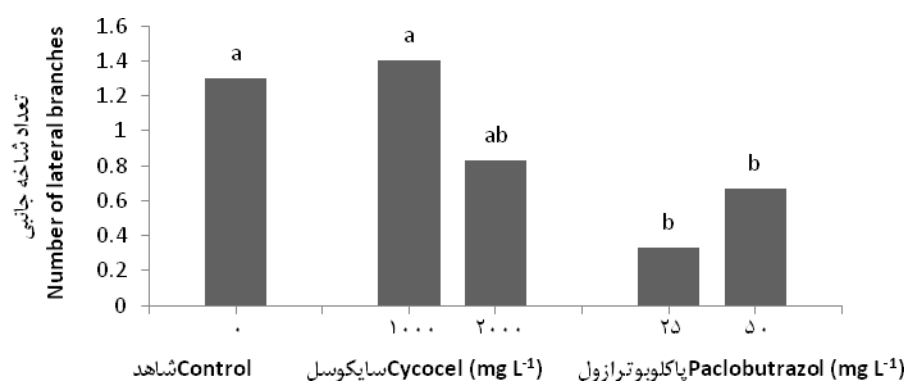


شکل ۴- اثر اصلی و برهمکنش بنزیل آدنین (BA) در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر، سایکوسل (C) در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر و پاکلوبوترازول (P) در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد (Control) بر سطح برگ گیاه شمعدانی در شرایط تراریوم (LSD ($P \leq 0.05$))

Figure 4- Effect of Banzyleadenine (BA; 50 and 100 mg L⁻¹), Cycocel (C; 1000 and 2000 mg L⁻¹), Paclobutrazol (P; 25 and 50 mg L⁻¹), and their interactions compared with control on leaf area of Geranium under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)

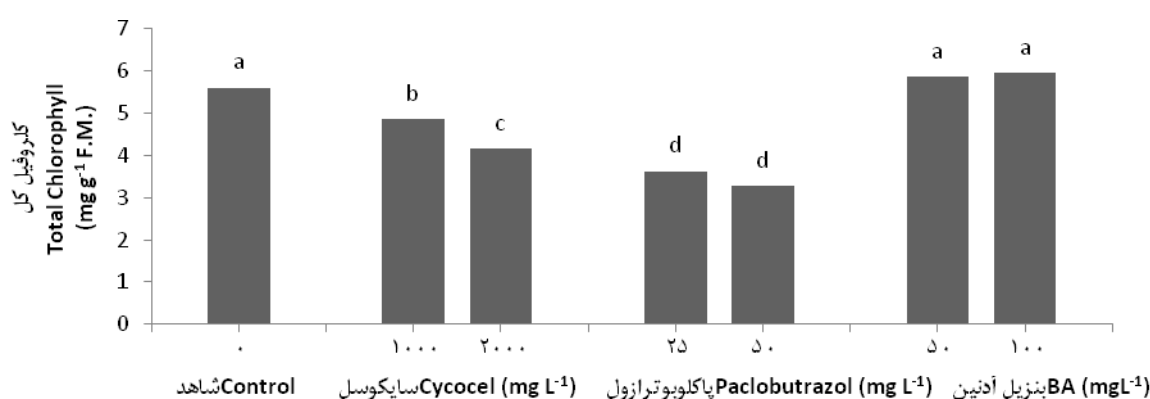
اثر محدودسازی محیط ریشه در فلفل و سویا نیز گزارش شده است (۲۰). بنزیل آدنین نیز همچون سایر سایتوکینین‌ها می‌تواند باعث فعال شدن جوانه‌های خاموش شود (۲۱)، همچنان که در تحقیقی روی گیاه ارکیده میلونیا (*Miltoniopsis*) مشخص شد رشد رویشی شاخه‌ها تحت تأثیر سایتوکینین افزایش یافت (۱۸). به‌علاوه اثرگذاری سایکوسل بر صفات رویشی و یا گل‌دهی نیز بستگی به نوع گونه گیاهی و نیز نوع کاربرد آن دارد، طوری که مشاهده شده است افزایش تعداد شاخه‌های جانبی در پاسخ به تیمار سایکوسل در فوشیا (*Fuchsia hybrida*) معنی‌دار بود (۵). در گیاه استئوسپر موم مشخص شد که سایکوسل و پاکلوبوترازول بر صفت تعداد شاخه‌های جانبی تأثیر معنی‌داری نداشتند، اما پاکلوبوترازول تولید شاخه‌های جانبی در کروتون و شفلرا را کاهش داده است (۳۰).

نتایج نشان داد که هیچ یک از تنظیم‌کننده‌ها اثر معنی‌داری بر تعداد شاخه‌های جانبی نداشتند، درحالی که محیط محدود تأثیر به سزایی در کاهش جوانه‌های جانبی داشت و گیاهان رشد یافته در گلدان‌های معمول به طور معنی‌داری شاخه‌های جانبی بیشتری داشتند (جدول ۱). در بین گیاهان تیمار شده با تنظیم‌کننده‌های رشد، بالاترین میزان شاخه‌های جانبی مربوط به کاربرد همزمان بنزیل آدنین و سایکوسل بود، درحالی که کمترین تعداد شاخه جانبی در تیمارهای پاکلوبوترازول مشاهده شد. به‌طور کلی محدودیت ریشه می‌تواند بر تمام خصوصیات مورفولوژیکی گیاه به‌ویژه رشد جانبی آن اثرگذار باشد و معمولاً گیاهان رشد یافته در محیط محدود دارای رشد جانبی کمتری (۲۰) و گیاهانی که در ظروف با حجم بزرگتر رشد می‌کنند، دارای رشد جانبی بیشتری هستند (۱۱). کاهش شاخه‌زایی بر



شکل ۵- اثر کندکننده‌های رشد سایکوسل (CCC) و پاکلوبوترازول (PBZ) در مقایسه با شاهد (Control) بر تعداد شاخه‌های جانبی شمعدانی در شرایط تراریوم $LSD (P \leq 0.05)$

Figure 5- Effect of Cycocel (CCC) and Paclobutrazol (PBZ) compared with control on lateral branches number of Geranium under terrarium conditions. $LSD (P \leq 0.05)$

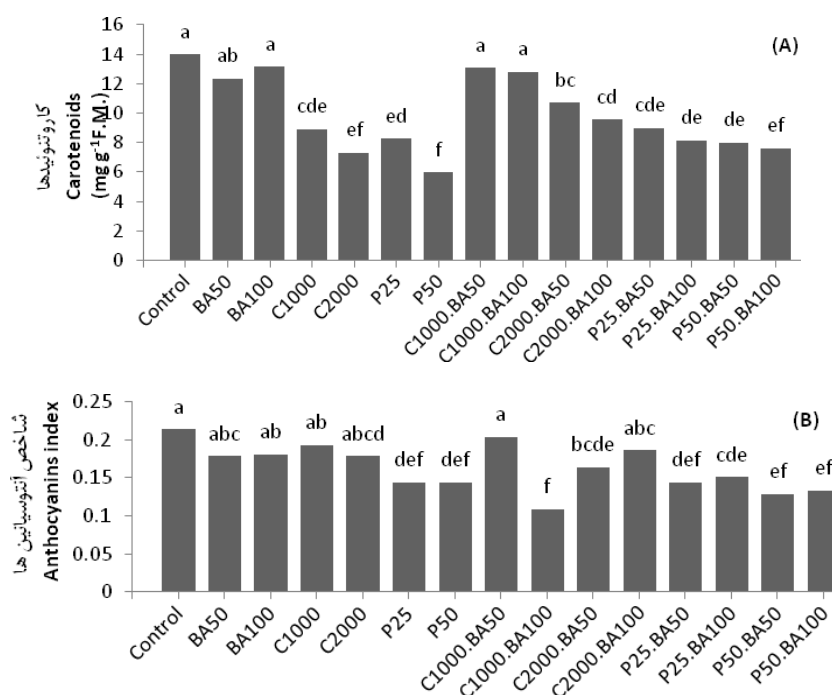


شکل ۶- اثر سایکوسل (CCC)، پاکلوبوترازول (PBZ) و بنزیل آدنین (BA) در مقایسه با شاهد (Control) بر میزان کلروفیل کل در برگ شمعدانی در شرایط تراریوم $LSD (P \leq 0.05)$

Figure 6- Effect of Cycocel (CCC), Paclobutrazol (PBZ) and Banzyleadenine (BA) compared with control on total chlorophyll of Geranium leaves under terrarium conditions. $LSD (P \leq 0.05)$

معنی‌داری سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها شد ولی این اثر در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل مشاهده نشد (شکل ۷ A). این رنگیزه بر اثر قرار گرفتن گیاه در محیط محدود افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). پایین‌ترین میزان کاروتنوئیدها در تیمار پاکلوبوترازول ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدون کاربرد بنزیل آدنین بود. شاخص آنتوسیانین‌های برگ شمعدانی نیز بر اثر تیمار کندکننده‌های رشد کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۷ B) و این کاهش همانند اثری که روی رنگیزه کاروتنوئید مشاهده شد، تحت اثر پاکلوبوترازول بیش از اثر سایکوسل بود. کاربرد بنزیل آدنین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به جبران اثر منفی سایکوسل گردید ولی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر این اثر مشاهده نشد. همچنین این ماده نتوانست اثر منفی پاکلوبوترازول را حتی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر خنثی نماید. بعلاوه مشخص شد که قرار گرفتن در محیط محدود همانند اثر مشاهده شده در رنگیزه کلروفیل، موجب تغییر معنی‌دار در میزان آنتوسیانین‌های برگ نشد (جدول ۱). در تحقیقی روی گیاه ذرت گزارش شد که اعمال تنظیم‌کننده‌های تریازولی در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش کلروفیل‌ها، آنتوسیانین‌ها و کاروتنوئیدها در گیاه ذرت شد (۲۵).

ارزیابی فیتوشیمیایی رنگیزه‌های کلروفیل‌ها، کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌های برگ شمعدانی نشان داد کلروفیل برگ شمعدانی تحت تأثیر هردو کندکننده رشد سایکوسل و پاکلوبوترازول کاهش معنی‌دار داشت و اثر منفی پاکلوبوترازول بر میزان این رنگیزه بیش از سایکوسل بود، درحالی‌که با کاربرد بنزیل آدنین روند افزایش معنی‌دار سطح کلروفیل کل در برگ شمعدانی مشاهده شد (شکل ۶)، با این‌وجود، محدود سازی بستر کشت تغییر معنی‌داری در سطح این رنگیزه فتوسنتزی ایجاد نکرد (جدول ۱). نشان داده شده است که سطح کلروفیل در برگ‌های گیاه شیپوری در پاسخ به تیمار بنزیل آدنین روند افزایشی داشته است (۱۴). به‌طور کلی سایتوکینین‌ها منجر به افزایش نمو کلروپلاست و افزایش تشکیل کلروفیل می‌شوند و معمولاً باعث افزایش میزان سبزیگی برگ می‌شوند، همانطور که اثر مثبت بنزیل آدنین بر میزان کلروفیل برگ در گیاه لیلیوم نیز گزارش شده است (۲۷). اثر افزایشی بنزیل آدنین بر محتوای کلروفیل کل برگ آزمون نیز معنی‌دار بوده است (۱۳). کندکننده‌های رشد میزان کاروتنوئیدها را نیز همچون کلروفیل کل به‌طور معنی‌داری کاهش دادند اما کاربرد بنزیل آدنین سبب تعدیل اثر منفی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل بر رنگیزه کاروتنوئیدها گردید و به‌طور



شکل ۷- اثر اصلی و برهمکنش بنزیل آدنین (BA) در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کندکننده رشد سایکوسل (C) در غلظت‌های ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و پاکلوبوترازول (P) در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با شاهد (Control) بر میزان کاروتنوئیدها (A) و شاخص آنتوسیانین‌های برگ گیاه شمعدانی در شرایط ترابریوم (B) ($P \leq 0.05$)

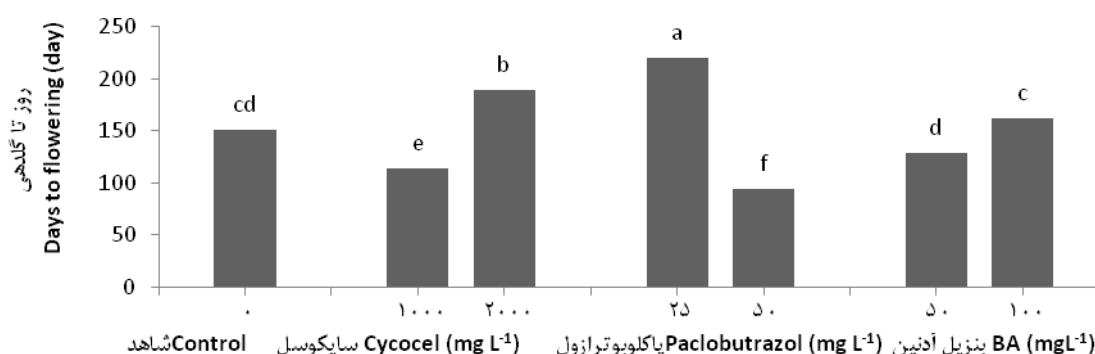
Figure 7- Effect of Banzyleadene (BA; 50 and 100 mg L⁻¹), Cycocel (C; 1000 and 2000 mg L⁻¹) and Pacllobutrazol (P; 25 and 50 mg L⁻¹) and their interactions compared with control on carotenoids (A) and anthocyanins index (B) of Geranium leaves under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)

اثر افزایشی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. در پژوهشی نشان داده شد که با افزایش اندازه گلدان یا ظرف حاوی بستر کشت، زمان تا گل‌دهی در گیاه سلوی به میزان معنی‌داری کاهش یافته است، در مورد گوجه فرنگی نیز گزارشات نشان می‌دهد که کاهش حجم محیط کشت گل‌دهی را به تأخیر می‌اندازد در حالی که در گیاه اسفناج تابستانه (*Spinacia oleracea*) تأثیر معنی‌داری دیده نشده است (۱۱).

تیمار سایکوسل در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش معنی‌دار تعداد گل آذین و تعداد گل در گل آذین و در مقابل تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل و ۲۵ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول سبب کاهش شدید تعداد گل آذین و تعداد گل در گل آذین نسبت به شاهد گردیدند (شکل ۹ A و C).

غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول اثر کاهنده شدید بر مرحله زایشی شمعدانی داشت و گل‌دهی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، به احتمال این اثر به کاربرد همزمان محیط محدود و یک کندکننده تریازولی باز می‌گردد. محدودسازی محیط کشت منجر به محدودیت ریشه و در نتیجه کاهش جذب آب و نیز مواد غذایی شده و همانطور که پیش‌تر نیز گفته شد باعث به هم خوردن تعادل هورمونی می‌شود (۷ و ۱۱). به نظر می‌رسد غلظت به کاربرده شده پاکلوبوترازول در تیمار ۲۵ میلی‌گرم در لیتر باعث ایجاد تعادل هورمونی مناسب نشده و اکثریت گیاهان این تیمار، حتی باوجود بنزیل آذین گل‌دهی مناسبی نداشتند. اگرچه بیان شده است که تریازول‌ها و از جمله پاکلوبوترازول در بیشتر موارد میزان گل‌دهی را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (۱۰)، ولی گزارش شده است که تعداد گل آذین شمعدانی بر اثر تیمار پاکلوبوترازول کاهش یافته است (۸). به نظر می‌رسد این اثر بیشتر وابسته به نوع گونه گیاهی و شرایط محیط رشد گیاه باشد.

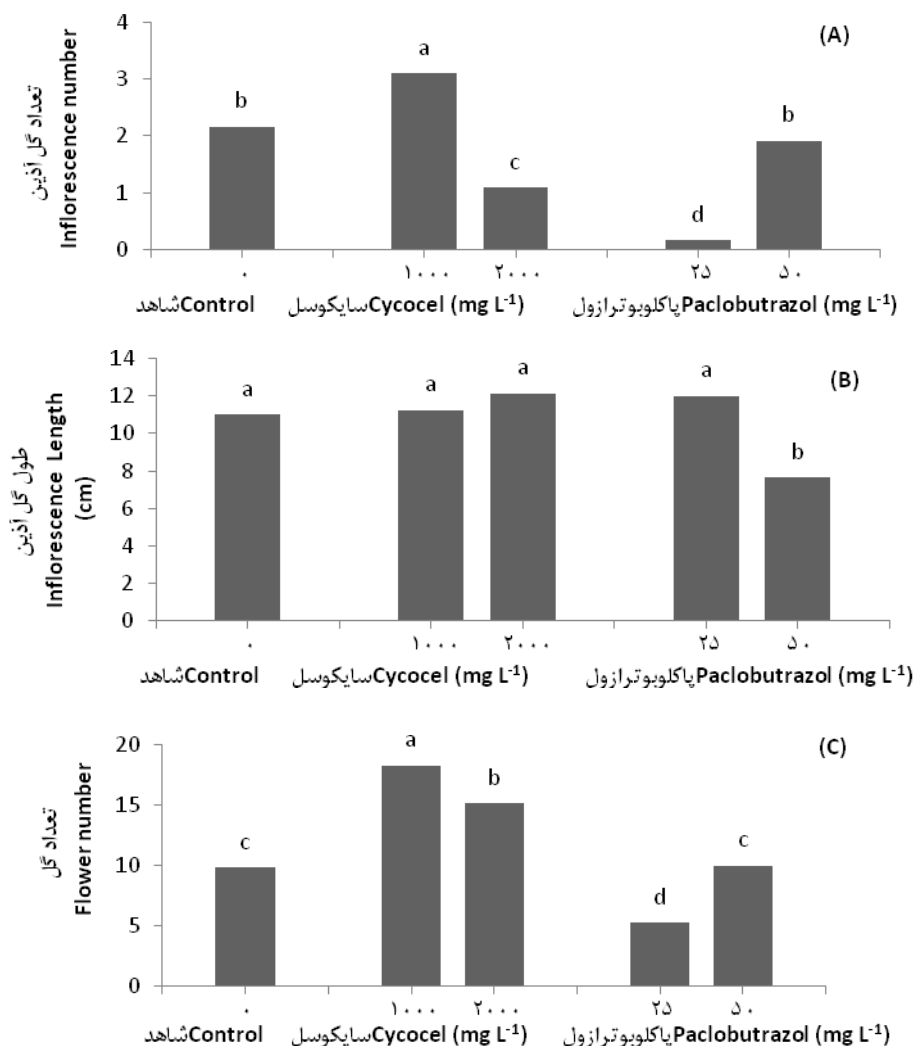
صفت تعداد روز تا گل‌دهی تحت تأثیر سطح ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول و به‌طور جزئی در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۸). به عبارت دیگر این تیمار سبب تسریع در گل‌دهی شد، در حالی که غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل و نیز ۲۵ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول منجر به افزایش معنی‌دار زمان تا گل‌دهی نسبت به شاهد شدند. اثر تسریع در گلدهی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بیش از ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر سایکوسل بود. اثر بنزیل آذین در زمان آغاز گل‌دهی نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. کاهش زمان تا گل‌دهی بر اثر تیمار پاکلوبوترازول در شمعدانی در شرایط رشد معمول (۸) و در گیاه زنبق سیاه (*Iris nigricans*) نیز به‌طور معنی‌داری مشاهده شده است (۲). همانطور که گفته شد سایکوسل در غلظت بالا گل‌دهی را به تأخیر انداخته در حالی که در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر گل‌دهی را تسریع کرده است. چنین اثری می‌تواند ناشی از اثر منفی غلظت‌های بالای این ماده بر رشد رویشی و در نتیجه تأخیر در گل‌دهی باشد و اثر مثبت غلظت متوسط بر گلدهی و تسریع آن نیز ممکن است به تعدیل رشد رویشی به نفع رشد زایشی مربوط باشد. در مورد انواعی از ارکیده‌ها گزارش شده است که بنزیل آذین گل‌دهی را تحریک و یا القا کرده است اما در مورد گل‌دهی ارکیده میلونیا بنزیل آذین تولید گل آذین را کاهش داده است و در واقع سبب تحریک رشد رویشی نیز شده است (۱۸) ولی تیمار بنزیل آذین در گیاه شیپوری اثرات منفی بر گل‌دهی نداشته است (۱۴) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. به‌طور کلی نوع گونه گیاهی و فصل کاربرد تا حد زیادی تعیین کننده اثرات بنزیل آذین بر رشد و گل‌دهی خواهد بود. به‌علاوه مقایسه بین گیاهان شاهد درون محیط محدود با گیاهان خارج از شرایط محدود نشان داد (جدول ۲) که محدودسازی محیط کشت تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش زمان تا گل‌دهی داشت و این



شکل ۸- اثر کند کننده‌های رشد سایکوسل (CCC) و پاکلوبوترازول (PBZ) و محرک رشد بنزیل آذین (BA) در مقایسه با شاهد (Control) بر

صفت روز تا گلدهی گیاه شمعدانی در شرایط تراریوم. LSD ($P \leq 0.05$)

Figure 8- Effect of Cycocel (CCC), Paclobutrazol (PBZ) and Banzyleadenine (BA) compared with control on days to flowering of Geranium under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)



شکل ۹- اثر کند کننده‌های رشد سایکوسل (CCC) و پاکلوبوترازول (PBZ) و محرک رشد بنزیل آدنین (BA) در مقایسه با شاهد (Control) بر تعداد گل آذین (A)، طول گل آذین (B) و تعداد گل در گل آذین (C) گیاه شمع‌دانی در شرایط تراریوم. LSD ($P \leq 0.05$)

Figure 9- Effect of Cycocel (CCC) and Paclobutrazol (PBZ) compared with control on inflorescence number (A), inflorescence length (B) and flower number (C) of Geranium under terrarium conditions. LSD ($P \leq 0.05$)

کاهش معنی‌دار این صفت نسبت به شاهد مشاهده شد و سایر تیمارها تفاوت چندانی را ایجاد نکردند (شکل ۹ B). چنین اثر معنی‌دار پاکلوبوترازول در کاهش طول ساقه گل زنبق سیاه (*Iris nigricans*) نیز گزارش شده است (۲). محدودسازی محیط ریشه مانند سایر فاکتورهای رشد و گل‌دهی، طول دمگل را نیز تحت تأثیر قرار داد و باعث کاهش معنی‌دار این صفت شد (جدول ۲). بنزیل آدنین روی خصوصیات مربوط به گل‌دهی اثرگذار نبود. طی بررسی اثر بنزیل آدنین در گیاه شیپوری نیز مشخص شد که این سایتوکینین مصنوعی هیچ یک از خصوصیات مرتبط با گل‌دهی را تحت تأثیر قرار نداده است (۱۴) و به نظر می‌رسد علت این عدم تأثیر مرتبط با پایین بودن غلظت‌های به کار برده شده بنزیل آدنین بوده باشد.

در زنبق سیاه پاکلوبوترازول با وجود تحت تأثیر قرار دادن زمان گل‌دهی، اندازه و وزن گل‌ها اثری بر تعداد گل‌های تولیدی نداشته است (۲). مقایسه بین گیاهان شاهد در محیط محدود و شرایط نرمال رشد نشان دهنده تأثیر قابل ملاحظه کاهش حجم محیط کشت بر میزان گل‌دهی از جهت تعداد گل آذین و نیز تعداد گل در هر گل آذین بود (جدول ۲). اثر محدودسازی محیط ریشه در سلوی نیز باعث کاهش معنی‌دار تعداد گل شده است، البته گزارشات قبلی هم دلالت بر وابستگی پاسخ گل‌دهی به نوع گونه گیاهی دارد (۱۱). بعلاوه کاهش گل‌دهی جعفری نیز تحت تأثیر محدودسازی محیط ریشه گزارش شده است (۱۶).

یکی دیگر از فاکتورهای اندازه‌گیری شده در مرحله زایشی طول دمگل آذین است که تنها در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول

جدول ۱- مقایسه میانگین برخی صفات مورفو- فیزیولوژیک گیاه شمعدانی معمولی (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Horizon') رشد یافته در گلدان با گیاه رشد یافته در تراریوم (شرایط رشد محدود)

Table 1- Mean comparison of some morph-physiological traits of Geranium (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Horizon') plants grown as common potted plant with terrarium plant (limited growth conditions)

صفات Traits	سطح معنی داری Significance level	t value	گیاه گلدانی (شاهد) Potted plant (Control)	گیاه تراریوم Terrarium plant
ارتفاع گیاه Plant height (cm)	**	11.54	19.50	9.50
قطر ساقه Stem diameter (mm)	**	3.92	10.33	8.66
سطح برگ Leaf area (mm ² plant ⁻¹)	**	5.40	3433.08	1571
تعداد برگ Leaf number (#Plant ⁻¹)	**	3.89	23.00	13.5
تعداد شاخه جانبی Side branch number (#Plant ⁻¹)	**	2.79	2.50	0.5
وزن تر شاخه Shoot fresh weight (g plant ⁻¹)	**	3.93	6.10	2.47
وزن خشک شاخه Shoot dry weight (g plant ⁻¹)	**	2.57	29.97	11.50
وزن تر ریشه Root fresh weight (g plant ⁻¹)	**	3.20	4.16	1.94
وزن خشک ریشه Root dry weight (g plant ⁻¹)	**	2.60	0.80	0.46
کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ F.M.)	ns	1.42	3.20	2.79
کاروتنوئیدها Carotenoids (mg g ⁻¹ F.M.)	**	3.63	11.87	13.98
شاخص آنتوسیانین ها Anthocyanins Index	ns	1.79	0.21	0.17
تعداد گل آذین Inflorescence number	*	2.25	3.50	1.25
تعداد گل Flower number (# inflorescence ⁻¹)	**	4.03	25.50	6.75
طول گل آذین Inflorescence length (cm)	**	3.23	19.50	10.12
روز تا گل دهی Days to flowering	**	83.13	99.00	147

ns و * و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معنی داری
** P≤0.01; * P≤0.05; ns, not significant.

نتیجه گیری

برقرار شد و می تواند در تولید گیاه شمعدانی با کیفیت بصری مناسب در شرایط تراریوم توصیه شود. بنزیل آدنین به عنوان یک سایتوکینین مصنوعی بر برخی فاکتورها از جمله افزایش رنگیزه های برگ مؤثر بود می تواند منجر به بهبود فعالیت فتوسنتزی شود و به همین علت هم با کاربرد بنزیل آدنین در برهمکنش با کند کننده های رشد خصوصیات قطر ساقه، سطح برگ، وزن تر و خشک شاخساره و نیز رنگیزه های برگ بهبود یافت. در حالی که این ماده به طور کلی هیچ یک از خصوصیات مربوط به گل دهی را تحت تأثیر قرار نداد. این تیمار حتی

از آنجایی که هدف پژوهش حاضر کنترل رشد و مدیریت گل دهی گیاه شمعدانی در تراریوم با استفاده از تنظیم کننده های رشد بود، مشاهده شد که ارتفاع گیاه تحت تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول کاهش معنی داری نسبت به شاهد پیدا کرد و این تیمار از لحاظ گل دهی نیز نه تنها اثر نامطلوبی نداشت بلکه زمان تا گل دهی را به میزان معنی داری کاهش داد و گل دهی را تسریع کرد. به نظر می رسد تعادل رویشی مناسبی در گیاهان تحت این تیمار

قابل ملاحظه‌ای صفات رویشی را کاهش داد و در مقابل زمان تا گل‌دهی را نیز به تأخیر انداخت، به این معنی که گل‌دهی گیاه شمعدانی پرورش یافته در محیط محدود تراپیوم دیرتر از محیط معمول گلدان بود.

سبب تأخیر در گل‌دهی گردید که یک صفت منفی محسوب می‌شود. در ارتباط با محدودسازی محیط ریشه در آزمایش حاضر می‌توان گفت که مقایسه دو گروه شاهد در داخل و خارج محیط محدود که بر کلیه صفات رویشی و گل‌دهی موثر بود و این محدودیت به میزان

منابع

- 1- Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- 2- Al-Khassawneh N.M., Karam N.S., and Shibli R.A. 2006. Growth and flowering of black iris (*Iris nigricans* Dinsm.) following treatment with plant growth regulators. *Scientia Horticulturae*, 107: 187-193.
- 3- Amling J.W., Keever G.J., Kessler J.R., and Eakes D.J. 2005. Response of 'Moonbeam' *Coreopsis* and 'Goldsturm' *Rudbeckia* to B-Nine and Cycocel. *Environmental Horticulture*, 23(1): 25-28.
- 4- Bailey D.A., and Whipker B.E. 1998. Height Control of Commercial Greenhouse Flowers. North Carolina State Cooperative Extension Horticulture Information Leaflet 528. Available at <http://www.ces.ncsu.edu/depts/hort/hil/hil-528.html> (visited 12 July 2016).
- 5- Babelewski P., and Pancerz M. 2014. Influence of chromquat and flurprimidol application on vegetative growth of some ornamental container plants. *Acta Agrophysica*, 21(3): 251-261.
- 6- Borch K., Brown K.M., and Lynch J.P. 1998. Improving bedding plants quality and stress resistance with low phosphorus. *HortTechnology*, 8: 575-579.
- 7- Bouzo A., and Favaro J.C. 2015. Container size effect on the plant production and precocity in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21: 325-332.
- 8- Cox D.A. 1991. Gibberellic Acid Reverses Effects of Excess Paclobutrazol on Geranium. *HortScience*, 26(1): 39-40.
- 9- FloraHolland 2011. Facts and figures. Available at <http://www.floraholland.com/en/> (visited 05 January 2013).
- 10- Gianfagna T.J., and Wulster G.J. 1986. Comparative effects of ancymidol and paclobutrazol on Easter lily. *HortScience*, 21: 463-464.
- 11- Iersel M.V. 1997. Root restriction effect on growth and Development of *Salvia* (*Salvia splendens*). *HortScience*, 32(7): 1186-1190.
- 12- Janowska B., Schroeter-Zakrzewska A., and Rybus-Zajac M. 2009. Effect of benzyladenine and gibberellic acid on the growth and flowering of *Anemone coronaria* L. 'Sylphide'. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Horticulture*, 12(2): 08.
- 13- Janowska B., Schroeter-Zakrzewska A., and Rybus-Zajac M. 2012. Content of chloroplast pigments and saccharides in leaves of poppy anemone (*Anemone coronaria* L.) 'sylphide' after application of Benzyladenine and Gibberellic acid. *Nauka Przyroda Technologie*, 6: 3-44.
- 14- Janowska B. 2014. Effect of benzyladenine on flower and leaf yield of Calla lily (*Zantedeschia spreng*). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20: 633-637.
- 15- Khandan-Mirkohi A., Kazemi F., Babalar M., and Naderi R. 2014. The Effect of Limited Application of Phosphorus on the Height Control and Improving the Quality of Geranium (*Pelargonium hortorum* cv. Bulles eye). *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 20: 63-69. (In Persian with English abstract)
- 16- Latimer J.G. 1991. Growth Retardants Affect Landscape Performance of Zinnia, Impatiens and Marigold. *HortScience*, 26(5): 557-560.
- 17- Mansuroglu S., Karaguzel O., Ortacesme V., and sayan M.S. 2009. Effect of paclobutrazol on flowering, leaf and flower color of *Consulida orientalis*. *Pakistan Journal of Botany*, 41(5): 2323-2332.
- 18- Matsumoto T.K. 2006. Gibberellic acid and Benzyladenine promote early flowering and vegetative growth of *Miltoniopsis* Orchid hybrids. *HortScience*, 41(1): 131-135.
- 19- Mok M.C., Martin R.C., and Mok D.W.S. 2000. Cytokinins: Biosynthesis, metabolism and perception. *Society for In Vitro Biology*, 36: 102-107.
- 20- Nesmith D.S., and Duval J.R. 1998. The Effect of Container Size. *HortTechnology*, 8(4): 495-498.
- 21- Oates J.M., Keever G.J., and Raymond Kessler J. 2005. Developmental Stage Influences Plant Response to Benzyladenine. *Environmental Horticulture*, 23(3): 149-152.
- 22- Olsen W.W., and Andersen A.S. 1995. Short Communication. The influence of five growth retardants on growth and postproduction qualities of *Osteospermum ecklonis* cv. "Calypso". *Scientia Horticulturae*, 62: 263-270.
- 23- Padhye S., Oh W., and Runkle E. 2014. Use of Benzyladenine to Enhance Production and Postharvest Quality of Floricultural Crops: 1. Branching and Flowering. Special Research Report #522: Production Technology.

- Department of Horticulture, Michigan State University, East Lansing, MI 48824. Available at: <http://endowment.org/wp-content/uploads/2014/03/522Runkle.pdf> (Visited 31 July 2018).
- 24- Poorter H., Böhler J., Dusschoten D.V., and Climent J. 2012. Pot size matters: a meta-analysis of the effects of rooting volume on plant growth. *Functional Plant Biology*, 39: 839–850.
- 25- Rajasekar M., Rabert G.A., and Manivannan P. 2016. The effect of triazole induced photosynthetic pigments and biochemical constituents of *Zea mays* L. (Maize) under drought stress. *Applied Nanoscience*, 6: 727–735.
- 26- Singh A.K. 2016. Influence of paclobutrazol on growth and seed yield in African marigold. *Environment and Ecology*, 34(4): 1900-1903.
- 27- Situma M.N., Mwangi M., and MulWa R.M.S. 2015. Effects of benzyl adenine and gibberellic acid pre-treatments on dormancy release, flowering time and multiplication of oriental lily (*Lilium longiflorum*) bulbs. *Journal of Applied Horticulture*, 17(1): 26-30.
- 28- Tayma H. K., and Carver S.A. 1990. Zonal geranium growth and flowering responses to six growth regulators. *HortScience*, 25(1):82-83.
- 29- Wagner G.J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology*, 64: 88-93.
- 30- Wang Y.T., and Blessington T.M. 1990. Growth of Four Tropical Foliage Species Treated with Paclobutrazol or Uniconazole. *HortScience*, 25(2): 202-204.
- 31- Wang Y.T., and Boogher C. 1987. Effect of stock plant shading, developmental stage and cytokinin on growth and lateral branching of *Syngonium podophyllum* 'White Butterfly'. *Scientia Horticulturae*, 33: 137-145.
- 32- Yeshitela T., Robbertse P.J., and Stassen P.J.C. 2004. Paclobutrazol suppressed vegetative growth and improved yield as well as fruit quality of 'Tommy Atkins' mango (*Mangifera indica*) in Ethiopia. *New Zealand Journal of HortScience*, 32: 281-293.



Managing Growth and Flowering of Geranium under Limited Growth Environment

A. Khandan-Mirkohi^{1*} - S.R. Waez Mousavi² - A. Khalighi³ - R. Naderi⁴

Received: 02-01-2018

Accepted: 24-10-2018

Introduction: Cultivation of ornamental plants in terrariums is common, but the use of flowering plants in such environment is difficult and rarely seen. Common geranium (*Pelargonium hortorum* L.H.) is the most well-known potted and garden plant in the top of 25 popular world's market rankings. Today, one of the main goals of commercial producers is the production of the uniform plants in terms of morphological traits such as uniformity in the height that needs some management. To achieve this objective plant genetic potential, managing the growth and environmental factors, restrictions on root environment, water and nutrition to a level that does not affect the quality as well as application of chemical plant growth retardants (PGRs) could be considered. Paclobutrazol (PBZ) commercially known as Bonzi and chlomequat chloride (CCC) known as cycocel are commonly used to control the height of some pot plants. Additionally, Benzyladenine (BA) as a synthetic cytokinin can influence the growth characters of plants. This experiment conducted to evaluate the effect of paclobutrazol, cycocel and benzyladenine on the growth and flowering of geranium as a flowering terrarium plant.

Materials and Methods: The effect of PBZ, CCC and BA evaluated as a factorial experiment based on CRD on the growth and flowering of geranium (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Horizon') as terrarium plant. At first, geranium seeds planted in tray cells as plugs filled by sieved black peat to below 2 mm in early autumn, Oct. 2015. Seedlings were grown in a greenhouse conditions with an average day/night temperatures of $25/20 \pm 2$ °C, nourished with 1:2 ratio diluted Hoagland nutrient solution as irrigation demand, until 2-4 leaves stage then transferred into terrarium containers (with 20 cm of middle diameter and 15 cm of height). Inside container relative air humidity was about 75±5% and growing environment light intensity (PPF) was about $500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Irrigation and nutrition also applied at seedling stage in terrarium. Terrarium glass container totally filled to a quarter of volume considering a drainage layer of gravel, activated charcoal, a layer of substrate barrier (plastic net), potting soil containing of 20 vol.% sieved field loam soil, 10 vol.% of fine perlite and 70 vol.% of sieved black peat. PBZ at the levels of 0, 25 and 50 ppm and CCC at the levels of 0, 1000 and 2000 ppm applied one month after transplanting (Feb. 2015) and BA treatment for flowering management applied at the levels of 0, 50 and 100 ppm four months after transplanting (May 2016). Growth and flowering characters evaluated thoroughly while root and shoot fresh and dry weight, photosynthetic pigments of chlorophyll, carotenoids, and anthocyanin index assessed at the end of the experiment.

Results and Discussion: Both growth retardants PBZ and CCC led to a significant reduction in plant height in high concentrations. Thus, the effect of PGRs on plant height was significant, while the effect of BA and its interactions by PGRs on this trait was not considerable. Effective treatments on this trait were PBZ in concentration of 50 ppm and then CCC in 2000 ppm. In particular, the use of these concentrations without BA treatment led to the shortest plants. Comparison of plants cultivated in the pot and terrarium conditions showed that the growth conditions had a considerable and significant impact on plant height and growth. Stem diameter, number of leaves and leaf area significantly reduced by PBZ compared to the control, but CCC did not show a significant effect on these traits. Smaller stem diameter occurred through 25 ppm of PBZ together with 50 ppm of BA. Application of PBZ especially at 25 ppm resulted in a significantly reduced number of plant leaves and leaf area compared to the control and application of CCC. Application of CCC at the level of 2000 ppm combined with BA of 50 ppm caused to a significant increase of leaf area compared to the control. Results on the number of lateral branches showed that application of PGRs had no effect on this character, while restriction of growth in terrarium conditions led to decrease in the number of lateral branches. Number of lateral branches raised by application of BA and CCC, while less number of branches observed with PBZ

1, 2, 3 and 4- Assistant Professor, M.Sc. Graduated and Professors Department of Horticulture Sciences, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Respectively

(* - Corresponding Author Email: khandan.mirkohi@ut.ac.ir)

treatments especially at the level of 25 ppm. Chlorophyll and anthocyanin content of leaves decreased by both retardants. Days to flowering shortened by PBZ treatment of 50 ppm and slightly by CCC treatment of 1000 ppm in terrarium conditions. In general, flowering process accelerated via these treatments, while PBZ of 25 ppm and CCC of 2000 ppm delayed the flowering of plants compared to the control. The acceleration effect of 50 ppm PBZ was superior to the effect of 1000 ppm of CCC. The effect of BA on flowering time was insignificant despite of initial prospect. Finally, the photosynthetic pigments, leaf area and stem diameter increased because of BA, while flowering characters not influenced by means of BA. In general, 50 ppm of PBZ and without BA treatment was able to improve production characters of geranium plants in terrarium conditions.

Conclusions: The goal of this research was managing the growth and flowering of geranium in the restricted terrarium conditions by PGRs. It was found that treatment of plants by 50 ppm of PBZ could properly control the plant height and whereas positively accelerated flowering without and negative side effects on the plant performance. It seems that a good hormonal balance performed by this concentration of PBZ compared to CCC and BA. Early flowering is a positive quality trait for the most flowering ornamental plants. However, BA application itself and in interaction with CCC could enhance the photosynthetic pigment contents and thus improved the growth characters but it could not influence flowering traits even though delayed the flowering, significantly. Restriction of the root area via planting in terrarium could considerably limit the vegetative growth characters and delayed the flowering compared to the potted plants.

Keywords: Benzyladenine, Cycocel, Floriculture, Ornamental plant, Paclobutrazol, Plant growth regulator, Pot plants



اثر کم آبیاری بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی انگور عسگری (*Vitis vinifera* cv. Asgari) همزیست با قارچ‌ریشه آربسکولار

مسعود فتاحی^{۱*} - عبدالرحمان محمدخانی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر کم آبیاری بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه انگور رقم 'عسگری' در شرایط گلخانه در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و دو فاکتور شامل قارچ‌ریشه آربسکولار و مقدارهای آب آبیاری بود. در این آزمایش برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی از جمله ارتفاع، طول ریشه، حجم و تراکم ریشه، وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه، سطح برگ، تعداد برگ آسیب دیده، سطح ویژه برگ، قطر برگ و درصد همزیستی ریشه انگور با قارچ‌ریشه‌ها اندازه‌گیری شد. نتیجه‌ها نشان داد تیمارهای قارچ‌ریشه و آبیاری ۱۰۰ درصد باعث افزایش شاخص‌های وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه، سطح برگ و درصد همزیستی قارچ‌ریشه گردید. در اثر کم آبیاری شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمایش از جمله ارتفاع، وزن تر و خشک ریشه، برگ و ساقه کاهش یافت به طوری که میزان کاهش در گیاهان بدون قارچ ریشه بیشتر از گیاهان همزیست با قارچ ریشه بود. به طور کلی استفاده از قارچ‌ریشه در این پژوهش باعث کاهش اثرات مخرب تنش کم آبی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی (خصوصیات ریشه، خصوصیات برگ و ارتفاع) گیاه انگور شد که در این بین قارچ‌ریشه‌های ورسیفورم و اتونیکیتوم بهتر از قارچ‌ریشه‌های موسه و اینترادیس بودند. بیشترین ارتفاع در قارچ‌ریشه گلوموس اتونیکیتوم و بدون تنش با میانگین ۵۴ سانتی‌متر مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: تاک، خشکی، ریخت‌شناسی، مایکوریزا

مقدمه

شدن جلوگیری می‌شود. هم‌چنین خشکی موجب اختلال در تقسیم میتوز، طولی شدن و توسعه سلول می‌شود که منجر به کاهش رشد و عملکرد می‌گردد (۲). تنش آبی، انعطاف‌پذیری دیواره سلولی را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه توسعه سلولی و رشد کاهش می‌یابد (۱۱). در نتیجه، تأثیر منفی بر شاخص‌های رشدی از جمله سطح برگ، تاج گیاه، وزن زیست توده گیاه، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، طول میانگره، سطح مقطع تنه و زاویه‌ی انشعاب برگ با شاخه خواهد داشت. علاوه بر آن رشد افقی و عمودی ریشه و تراکم ریشه در واحد حجم خاک نیز تغییر می‌کند (۲۹).

مساحت قابل توجهی از زمین‌های کشاورزی به کشت دیم اختصاص دارد (۱۰). با توجه به کاهش بارندگی در بسیاری از مناطق تحت کشت و مدل‌های تغییر آب و هوایی پیش‌بینی می‌کنند که میزان محصول به مقدار زیادی در این اراضی کاهش پیدا می‌کند (۱۰). مگر این که تغییرات عمده‌ای در شرایط جغرافیایی ایجاد شود که در آن عمده محصولات کشاورزی رشد کنند. هم‌چنین کاربرد تکنیک‌های مدیریتی جدید در معرفی ژنوتیپ‌های برتر که انعطاف‌پذیری بالایی نسبت به تنش‌های غیرزنده (خشکی) دارند، منجر شده که کاهش بهره‌وری به حداقل برسد (۱۰). شمیم و

انگور عسگری با نام علمی '*Vitis vinifera* cv. 'Asgari' گیاهی دائمی از خانواده ویتاسه (Vitaceae) است. این گیاه یکی از مهم‌ترین محصولات باغی در دنیا و ایران است که از دوران قدیم مورد استفاده انسان بوده است. ایران دارای شرایط اکولوژیکی مناسبی برای پرورش انگور است (۶).

تنش آبی جزء تنش‌های عمومی می‌باشد که اثرات بسیار نامطلوبی بر رشد گیاه و میزان محصول می‌گذارد (۳۰). رشد سلول یکی از مهم‌ترین فرایندهای فیزیولوژیکی حساس به خشکی است. رشد نتیجه تولید سلول‌های دختر توسط تقسیمات سلول‌های مریستمی و پس از آن توسعه‌ی گسترده‌ی سلول‌های جوان است. تحت کمبود شدید آب، از طولی شدن سلول‌های گیاهان عالی به علت قطع جریان آب اطراف سلول‌های آوند چوبی در حال طولی

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

(*) نویسنده مسئول: (Email: Ma.fatahi67@gmail.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.70311

قارچ‌ها در شرایط محیطی نامناسب عملکرد گیاهان را بهبود می‌بخشد (۲۷). همزیستی مایکوریزا یک همزیستی درونی قدیمی است که از ۴۰۰ میلیون سال پیش منشأ می‌گیرد (۲۴). بیشتر گیاهان زمینی یک رابطه مشارکتی با قارچ‌های بیوتروف اجباری شاخه Glomeromycota دارند. قارچ *Arbuscular mycorrhizae* (AM) با ریشه حدود ۸۰ درصد از گیاهان خاکری رابطه همزیستی دارد که کربوهیدرات‌های مورد نیاز برای کامل کردن چرخه زندگی خود را از گیاه میزبان دریافت کرده و در مقابل برای گیاه مواد غذایی مانند نیتروژن و فسفر را فراهم می‌کند (۲۷). در واقع در بیشتر مطالعات، همکاری بین یک قارچ AM و یک گیاه، گیاه میزبان را نسبت به تنش‌های غیر زیستی مقاوم‌تر می‌کند (۲۷). همزیستی AM می‌تواند گیاهان میزبان را در برابر اثرات محدود کننده تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف محافظت کند (۲۷). با توجه به مشکل کم آبی در سالهای اخیر باید به فکر راهکاری برای استفاده بهتر و بهینه از آب در باغات کشور از جمله باغات انگور بود در این راستا استفاده از قارچ‌های مایکوریزا ممکن است بتواند باعث بهبود کارایی استفاده از آب و حفظ عملکرد مناسب انگور در شرایط آبیاری کمتر نسبت به شرایط آبیاری کنونی گردد بنابراین در این آزمایش از چهار گونه قارچ مایکوریزا که بیشتر در شرایط خشکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند استفاده شد تا میزان تاثیر و همزیستی آن‌ها با انگور عسگری که یکی از ارقام مهم در ایران است بررسی شود و بهترین ترکیب قارچ‌ریشه و انگور عسگری معرفی گردد. از آنجا که تنش خشکی اثرات آشکاری بر ریخت شناسی گیاه دارد و به طور آشکاری مرفولوژی گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد بنابراین، این شاخص‌ها می‌توانند بخوبی نشان‌دهنده تاثیرات خشکی و همزیستی مایکوریزایی باشد. با توجه به موارد مطرح شده، تحقیق حاضر به منظور شناسایی و بررسی صفات عمده مرفولوژیکی مرتبط با خشکی در انگور عسگری در اثر همزیستی با مایکوریزا انجام شد تا بهترین ترکیب قارچ‌ریشه و انگور عسگری برای شرایط کم آبیاری معرفی گردد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از چهار گونه قارچ مایکوریزا (*G. etunicatum*, *G. intraradices*, *Glomus mosseae*) (*G. versiform*) استفاده شد. قارچ‌های مورد نظر با استفاده از ذرت به عنوان گیاه تله به مدت ۴ ماه در گلخانه تکثیر گردید سپس اندام هوایی ذرت قطع شد، ریشه‌ها قطعه قطعه و با خاک گلدان مخلوط گردید که در نهایت مخلوط یکنواختی از قطعات ریشه آلوده، اسپور و خاک ناحیه ریشه تهیه شد که در مراحل بعد از آن به عنوان مایه قارچ استفاده گردید. خاک مورد استفاده به نسبت ۱:۲ به ترتیب از خاک مزرعه و ماسه تهیه گردید که دارای پ هاش (pH) ۷/۴۴ و هدایت

همکاران (۲۸) بیان کردند که تنش خشکی و شوری ضمن ایجاد محدودیت‌هایی برای رشد گیاه مخصوصاً در نواحی خشک و نیمه‌خشک جهان، نقش حیاتی در رشد و توسعه گیاه در تمامی مراحل رشد دارند. زیادی و کمی آبیاری هر دو برای پرورش انگور نامطلوب می‌باشند. زیادی آب باعث القاء رشد رویشی شدید و در نتیجه کاهش تولید، ایجاد تاج بسیار متراکم، حبه‌های درشت بی‌کیفیت، خوشه‌های فشرده و در نهایت تشدید خسارت آفات و بیماری‌ها می‌شود (۱۲). از طرف دیگر تنش شدید خشکی باعث کندی رشد، تأخیر در رسیدگی میوه، کاهش کیفیت میوه، به هم خوردن تناسب تعداد برگ و میوه و در نهایت کاهش عملکرد می‌شود (۱۲). زمانی که درختان تاک تحت تنش شدید قرار دارند پژمردگی برگ رخ می‌دهد. تنش شدید آب می‌تواند تأثیر برگشت پذیر یا برگشت‌ناپذیر روی انگور داشته باشد. در تنش شدید خشکی اثرهای برگشت‌ناپذیر ظاهر می‌شوند. این اثرها به ترتیب افزایش شدت تنش آب شامل: کلروز برگ، ریزش برگ، چروکیدگی حبه، از بین رفتن کامل تاک، کاهش غیرقابل برگشت در اندازه حبه، کاهش به میوه نشست، تأخیر تجمع قند در میوه، کاهش رنگ‌گیری میوه، بلوغ چوب، مقاومت به سرمازدگی تاک و جوانه‌های زایشی می‌باشد (۴). تنش خشکی یکی از عواملی می‌باشد که ممکن است تا حد زیادی رشد و متابولیسم تاک را تحت تأثیر قرار دهد. اگر بخش زیادی از خاک خشک شود، سرعت رشد شاخه‌ها کند شده و نوک شاخه به تدریج به رنگ سبز متمایل به خاکستری مانند برگ‌های بالغ تبدیل می‌شود. کمبود آب نیز باعث کاهش جذب مواد مغذی از خاک و طولانی شدن دوره‌های خشکی شده و نشانه‌های کمبود مواد غذایی افزایش می‌یابد (۴). استفاده از همزیستی مایکوریزا ممکن است باعث جذب بهتر آب و عناصر غذایی در شرایط تنش خشکی شود به همین منظور تاثیر گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا در شرایط کم آبیاری نیاز به بررسی دارد.

مطالعات زیادی نشان داده که همزیستی قارچ‌های مایکوریزا باعث افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی می‌شود. به خوبی مشخص شده است که AM آب و مواد غذایی را برای گیاهان میزبان تأمین می‌کند (۱۹) توسعه همزیستی مایکوریزا یک فرآیند به شدت تنظیم شده است که باعث تغییرات مرفولوژیکی شامل تحریک توسعه ریشه جانبی، افزایش حجم سلول ریشه می‌گردد (۲۶). در مطالعات قبلی مشخص شده است که ارتفاع گیاه، طول ریشه حجم ریشه و وزن تر ریشه و ساقه در سوپای دارای مایکوریزا نسبت به نمونه‌های بدون مایکوریزا در شرایط تنش و معمولی به طور معنی داری بیشتر بود (۲۰).

در شرایط طبیعی گیاهان با همراهی تعدادی از میکروارگانیسم‌ها رشد می‌کنند. برخی از این میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌ها و

از ریشه‌های رنگ آمیزی شده به منظور ارزیابی درصد همزیستی ریشه توسط قارچ‌های میکوریزا آریسکولار به صورت تصادفی انتخاب شد. میزان همزیستی با برآورد طولی از ریشه که به ساختمان‌های قارچی (وزیکول، آربوسکول و ریشه) همزیست می‌باشند، محاسبه و میانگین همزیستی ریشه برای این صد قطعه تعیین گردید.

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد بر روی قلمه‌های ریشه دارشده‌ی انگور عسگری (*Vitis vinifera* cv. 'Asgari')، انجام شد. آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتورهای میکوریزا (پنج سطح *G. intraradices*, *Glomus mosseae*, *G. etunicatum*, *G. verciform* و شاهد (بدون میکوریز) و خشکی (سه سطح صفر، ۳۰ و ۶۰ MAD) در سه تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد شاخص‌های ارتفاع، طول ریشه، حجم ریشه و تراکم ریشه تحت تاثیر اثر متقابل خشکی و میکوریزا قرار گرفت (جدول ۱). ارتفاع گیاه انگور در اثر تنش خشکی کاهش پیدا کرد به طوری که کمترین میزان ارتفاع مربوط به ۶۰ MAD بود. میکوریزا باعث کاهش تاثیر خشکی بر ارتفاع گیاه انگور شد به همین دلیل اختلاف معنی‌داری بین گیاهان میکوریز و بدون میکوریز از نظر آماری در سطح ۵ درصد مشاهده گردید. بیشترین ارتفاع در قارچ‌ریشه گلوموس اتونیکیتوم و بدون تنش با میانگین ۵۴ سانتی‌متر مشاهده گردید. میانگین‌های ۶۳/۳۳ و ۶۲/۶۷ سانتی‌متر مربوط به بیشترین طول ریشه بود که در شرایط بدون تنش بدست آمد و در شرایط تنش خشکی طول ریشه در گیاهان میکوریزی و بدون میکوریز کاهش یافت که میزان کاهش در گیاهان میکوریزی کمتر از گیاهان بدون میکوریز بود. حجم ریشه انگور تحت تاثیر تیمارها قرار گرفت به طوری که خشکی باعث کاهش معنی‌دار حجم ریشه در گیاهان همزیست با میکوریز و بدون میکوریز گردید. کمترین میزان حجم ریشه در سطح خشکی ۶۰ MAD مشاهده گردید. میزان حجم ریشه در گیاهان میکوریزی بیشتر از گیاهان بدون میکوریز بود و صفر MAD قارچ‌ریشه گلوموس موسه دارای بیشترین حجم ریشه با میانگین ۱۳۱/۷ میلی‌لیتر بود. تراکم ریشه با افزایش سطح تنش خشکی افزایش یافت بیشترین میزان افزایش در تراکم ریشه در قارچ‌ریشه ایتراادیس و بدون میکوریز به ترتیب با ۷۰ و ۶۶ درصد مشاهده شد. کمترین تراکم ریشه با میانگین ۰/۰۲۲ در صفر MAD قارچ‌ریشه اتونیکیتوم وجود داشت که دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با سایر تیمارها بود (جدول ۱).

الکتريکی (EC) ۱/۰۱ دسی‌زیمنس بر متر بود. برای استریل کردن خاک نمونه‌های خاک به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر اتوکلاو شد. قلمه‌های انگور به طول ۴۰ سانتیمتر از منطقه سامان شهرکرد تهیه کردید سپس جهت کاشت، قلمه‌های انگور به گلدان‌های حاوی ۲۰۰ گرم مایه‌قارچ میکوریزا منتقل شدند پس از گذشت ۶ ماه تست همزیستی انجام و با اطمینان لازم از همزیست بودن ریشه‌ها با قارچ، تنش رطوبتی به مدت ۶۰ روز اعمال گردید. تنش خشکی در سه سطح ۰، ۳۰ و ۶۰ MAD (میزان رطوبت بین ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی دائم) اعمال گردید. برای مشخص کردن سطوح آبیاری ابتدا نقطه پژمردگی دائم و ظرفیت زراعی اندازه‌گیری گردید و میزان آب مورد نیاز بین نقطه پژمردگی و ظرفیت زراعی مشخص شد و برای آبیاری نهال‌های انگور به ترتیب با ۱۰۰ درصد (صفر MAD)، ۷۰ درصد (۳۰ MAD) و ۴۰ درصد (۷۰ MAD) آن آبیاری انجام شد. پس از پایان تنش خشکی اندام‌های مختلف انگور (شاخساره و ریشه) برداشت و پس از اندازه‌گیری سطح برگ جهت محاسبه وزن خشک برگ، ساقه و ریشه به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. تراکم ریشه از تقسیم طول ریشه بر سطح برگ محاسبه (۳) و برای اندازه‌گیری حجم ریشه از یک استوانه مدرج که تا حجم خاصی درون آن آب وجود داشت استفاده شد و مقدار تغییر حجم آب بعد از قرار گرفتن ریشه گیاه درون استوانه مدرج، حجم ریشه بر حسب میلی‌لیتر (سانتی‌متر مکعب) در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری سطح برگ در پایان آزمایش، تمام برگ‌های گیاه را با استفاده از دستگاه سنجش سطح برگ ($LA; Leaf Area$ Meter-C1-2002, USA) اسکن کرده و سطح برگ بر اساس سانتی‌متر مربع به دست آمد. نسبت سطح برگ^۱ (LAR)، سطح ویژه برگ^۲ (SLA) و قطر برگ (LT) نیز با استفاده از روابط زیر محاسبه گردید (۱۳):

$$SLA = LA/LW \quad (۱)$$

$$LT = (SLA \times LDMC)^{-1} \quad (۲)$$

$$LDMC = LDM/LFM \quad (۳)$$

LA: سطح برگ بر حسب سانتی‌متر مربع

LW: وزن برگ بر حسب گرم

LDMC: میزان ماده خشک برگ

LDM: وزن خشک برگ

LFM: وزن تر برگ

برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها از روش فیلیپس و هیمن (۲۳) استفاده شد. برای تعیین درصد همزیستی ریشه‌ها ۱۰۰ قطعه یک سانتی‌متری

1- Leaf Area Ratio

2- Specific Leaf Area

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های صفات ارتفاع، طول ریشه، حجم ریشه و تراکم ریشه گیاه انگور رقم عسگری: همزیست با قارچ‌های میکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) در شرایط سطوح مختلف خشکی بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD)

Table 1- Comparison of mean of height, root length, root volume and root density of grapevine cv. 'Asgari' symbiosis with mycorrhizal fungi (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) under conditions of different levels of dryness based on moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD)

مایکوریزا Mycorrhiza	خشکی Drought	ارتفاع Height (cm)	طول ریشه Root length (cm)	حجم ریشه Root volume (ml)	تراکم ریشه Root density
NM	MAD0	27 ^{e-h}	63.33 ^a	59.33 ^{ef}	0.050 ^h
	MAD30	26.33 ^{f-h}	58.83 ^{ab}	75 ^{de}	0.070 ^e
	MAD60	24 ^h	53.33 ^{b-d}	33.89 ^g	0.148 ^a
M	MAD0	47 ^b	55 ^{bc}	131.7 ^a	0.031 ^k
	MAD30	28.67 ^{d-g}	47 ^{de}	81.75 ^{cd}	0.053 ^g
	MAD60	25.33 ^{gh}	33.5 ^f	33.87 ^g	0.072 ^d
V	MAD0	31.25 ^e	62.67 ^a	100 ^b	0.031 ^k
	MAD30	23 ^h	44.4 ^e	83.33 ^{cd}	0.038 ^j
	MAD60	28.5 ^{d-g}	52.08 ^{cd}	94.17 ^{bc}	0.083 ^c
E	MAD0	54 ^a	42.33 ^e	75 ^{de}	0.022 ^m
	MAD30	31 ^{c-e}	47 ^{de}	80 ^{cd}	0.044 ⁱ
	MAD60	23.83 ^h	47 ^{de}	103.3 ^b	0.058 ^f
I	MAD0	31.67 ^{cd}	45.17 ^e	81.67 ^{cd}	0.027 ^l
	MAD30	34.67 ^c	42 ^e	80.83 ^{cd}	0.037 ^j
	MAD60	29.67 ^{d-f}	54.83 ^{bc}	56.83 ^f	0.091 ^b

حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

The similar letters indicate no significant difference at the 5% probability level.

گیاهان دارای میکوریزا نسبت به گیاهان بدون میکوریزا بیشتر بود. کمترین میزان وزن تر و خشک ساقه مربوط به MAD 60 خشکی و بدون میکوریزا به ترتیب با میانگین ۵/۹۷ و ۲/۶۷ گرم دیده شد. اثر متقابل تنش خشکی و میکوریزا بر وزن تر و خشک ریشه معنی‌دار بود به‌طوری‌که کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در وزن تر و خشک ریشه مشاهده گردید که میزان کاهش در تیمار بدون میکوریزا بیشتر بود (۳۱ درصد وزن تر و ۴۸ درصد وزن خشک). در قارچ‌های ورسیفورم و اتونیکیتوم وزن تر و خشک ریشه در اثر تنش خشکی ابتدا افزایش (MAD 30) سپس کاهش (MAD 60) یافت هرچند تفاوتی از نظر آماری وجود نداشت و بیشترین میزان وزن تر ریشه در MAD 30 خشکی قارچ‌ریشه اتونیکیتوم با میانگین ۷۳/۷۳ گرم دیده شد (جدول ۲).

نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد تیمارهای خشکی و میکوریزا شاخص‌های وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک ریشه را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). تنش خشکی باعث کاهش وزن تر و خشک برگ شد به‌طوری‌که کمترین میزان وزن تر و خشک برگ در MAD 60 و بیشترین میزان وزن تر و خشک برگ در سطح MAD 0 مشاهده شد. گیاهان تیمار شده با میکوریزا وزن تر و خشک برگ بیشتری نسبت به گیاهان بدون میکوریزا داشتند بیشترین وزن تر برگ مربوط به قارچ‌ریشه ورسیفورم با میانگین ۱۷/۸۹ گرم بود. در قارچ‌های گلوموس موسه، ورسیفورم و اتونیکیتوم بین سطوح MAD 30 و MAD 60 خشکی تفاوت معنی‌داری از نظر وزن تر مشاهده نشد. نتایج نشان داد وزن تر و خشک ساقه نیز در اثر تنش خشکی کاهش یافت که میزان کاهش در

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی گیاه انگور همزیست با قارچ‌های مایکوریزا
(V= *verciform*, E= *etunicatum*, I= *intraradices*, M= *mosseae*, NM= non mycorrhizal)

در شرایط سطوح مختلف کم آبیاری بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD)

Table 2- Comparison of the mean of studied traits of grapevine cv. 'Asgari' symbiosis with mycorrhizal fungi (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. verciform*) under conditions of different levels of dryness based on moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD)

مایکوریزا Mycorrhiza	خشکی Drought	وزن تر برگ Leaf fresh weight (g)	وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)	وزن تر ساقه Stem fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)
NM	MAD0	12.54 ^{bc}	3.69 ^{a-c}	9.4 ^{cd}	4.06 ^{c-e}	48.33 ^{cd}	23.17 ^{d-f}
	MAD30	10.73 ^{b-d}	3.32 ^{a-d}	8.53 ^{cd}	3.59 ^{d-f}	39.95 ^{d-f}	20.07 ^f
	MAD60	4.72 ^f	1.59 ^e	5.97 ^e	2.67 ^f	33.02 ^f	11.95 ^g
M	MAD0	13.75 ^b	4.26 ^{ab}	10.06 ^c	4.46 ^{a-e}	65.74 ^{ab}	34.27 ^a
	MAD30	5.81 ^{ef}	2.35 ^{c-e}	9.53 ^{cd}	4.83 ^{a-d}	50.51 ^c	29.35 ^{bc}
	MAD60	5.63 ^{ef}	2.07 ^{c-e}	8.20 ^d	4.46 ^{a-e}	38.00 ^{ef}	19.22 ^f
V	MAD0	17.89 ^a	4.31 ^{ab}	11.88 ^b	4.18 ^{b-e}	50.60 ^c	20.02 ^f
	MAD30	9.52 ^{cd}	2.86 ^{b-e}	8.62 ^{cd}	4.62 ^{a-e}	52.92 ^c	27.26 ^{cd}
	MAD60	9.02 ^{c-e}	2.56 ^{c-e}	9.74 ^{cd}	4.31 ^{b-e}	43.72 ^{c-e}	25.90 ^{c-e}
E	MAD0	13.93 ^b	4.53 ^{ab}	13.77 ^a	5.41 ^{ab}	62.87 ^b	30.21 ^{a-c}
	MAD30	8.47 ^{d-f}	3.29 ^{a-d}	11.84 ^b	4.98 ^{a-c}	73.73 ^a	33.64 ^{ab}
	MAD60	8.35 ^{d-f}	2.92 ^{b-e}	7.99 ^d	3.89 ^{c-f}	68.14 ^{ab}	32.79 ^{ab}
I	MAD0	12.68 ^{bc}	4.60 ^a	9.19 ^{cd}	4.44 ^{a-e}	49.28 ^{cd}	23.59 ^{d-f}
	MAD30	10.36 ^{b-d}	4.45 ^{ab}	12.05 ^b	5.69 ^a	53.72 ^c	22.31 ^{ef}
	MAD60	4.96 ^d	1.83 ^{de}	8.25 ^{cd}	3.37 ^{ef}	33.43 ^f	21.36 ^{ef}

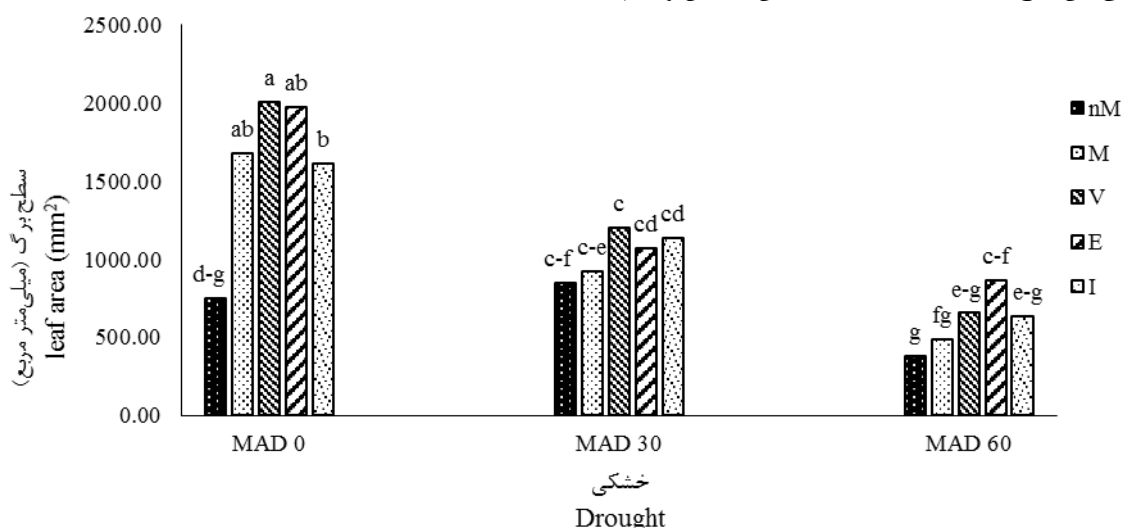
حروف مشترک نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

The similar letter indicate no significant difference at the 5% probability level.

تغییر می‌کند (۲۹). تنش آبی رشد گیاه را در تمام سطوح (سلول تا گیاه کامل) تحت تأثیر قرار می‌دهد (۸). در ارتباط با تغییرات ریشه نیز بیان شده که مورفولوژی رشد ریشه به‌طور ژنتیکی تعیین می‌شود با این حال، تحت تأثیر شرایط محیطی و فیزیکی، خواص شیمیایی و بیولوژیکی خاک، آب و هوا و شرایط محصول، به‌ویژه دسترسی به آب قرار می‌گیرد (۱۵). در شرایط تنش خشکی، دهیدراسیون و کاهش حجم سلولی در شاخه‌ها بیش‌تر از ریشه‌ها به وقوع می‌پیوندد و به عبارت دیگر تحت شرایط کم آبی، رشد شاخه‌ها بیش‌تر از رشد ریشه‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. چنین به نظر می‌رسد که تحت چنین شرایطی فرآورده‌های فتوسنتزی بیش‌تری به ریشه‌ها اختصاص داده می‌شود. به علاوه بالا بودن نسبت ریشه به شاخه‌ها در شرایط تنش خشکی می‌تواند با حساسیت متفاوت ریشه‌ها و شاخه‌ها با اسید آسبیزیک درون‌زا و وقوع تنظیم اسمزی بیش‌تر ریشه مرتبط باشد. بنابراین برخی گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، میزان جذب آب را از

نتایج نشان داد ارتفاع، طول ریشه، حجم ریشه و تراکم ریشه تحت تأثیر اثر متقابل خشکی و مایکوریزا قرار گرفت همچنین تیمارهای خشکی و مایکوریزا شاخص‌های وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ساقه و وزن تر و خشک ریشه را تحت تأثیر قرار دادند به طوری که در شرایط تنش مقدار آن‌ها نسبت به شاهد کاهش یافت. بر اساس مطالعات انجام شده کیفیت و کمیت رشد گیاه مربوط به تقسیم و توسعه سلولی و تمایز آن است و همه‌ی این رویدادها تحت تأثیر تنش آبی قرار می‌گیرد (۷). وقتی گیاهان در شرایط تنش آبی قرار می‌گیرند، انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد اندام‌ها، معمولاً کم می‌شود و توسعه‌ی سلولی و رشد را کاهش می‌دهد (۱۱). در نتیجه تغییرات شاخص‌های رشدی شامل کاهش سطح برگ، وزن تر و خشک گیاه، ارتفاع گیاه یا شاخه اتفاق می‌افتد که در این آزمایش نیز این کاهش مشاهده گردید. علاوه بر آن رشد افقی و عمودی ریشه و تراکم ریشه در واحد حجم خاک نیز

استفاده از قارچ از نظر سطح برگ مشاهده نگردید اما با افزایش سطح خشکی (MAD 60) قارچ ریشه اتونیکیتوم دارای بالاترین سطح برگ با میانگین ۸۶۴/۹ میلی متر مربع بود که با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بود. بین سایر قارچ‌های استفاده شده تفاوت معنی داری از نظر سطح برگ مشاهده نشد (شکل ۱). در پژوهشی که روی درختان زیتون رقم "کراتینا" انجام شد نتایج نشان داد که سطح برگ درختانی که تحت تنش آبی قرار گرفته بودند کاهش چشم‌گیری نسبت به درختان آبیاری شده نشان دادند. همچنین وزن خشک برگ گیاهان آبیاری شده ۳۰ درصد بیش‌تر از گیاهان تحت تنش بود (۲۲). کمبود آب باعث می‌شود که سلول‌های برگ به‌طور موقت آب خود را از دست بدهند. با گذشت زمان سرعت تقسیم و تولید شدن سلول‌ها کاهش یافته و در نتیجه، این تغییرات منجر به کوچک‌تر شدن اندازه نهایی برگ‌ها خواهد شد (۲۱).



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف کم‌آبیاری بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD) و گونه‌های مایکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) بر سطح برگ انگور رقم 'عسگری'

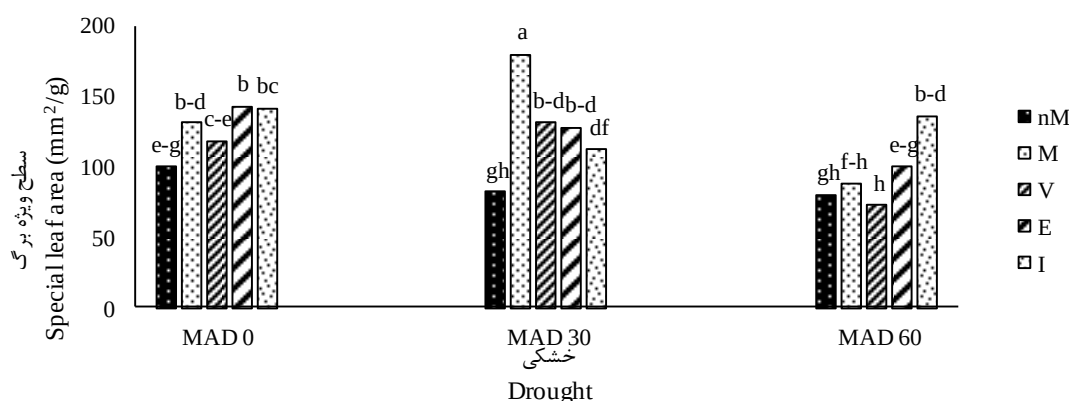
Figure 1- Effect of different irrigation levels on the basis of moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD) and mycorrhiza species (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) on the leaf area of grapevine cv. 'Asgari'

بر اساس نتایج بدست آمده اثرات ساده تنش خشکی و مایکوریزا بر قطر برگ معنی دار بود (شکل ۳). قطر برگ در اثر سطوح خشکی ابتدا کاهش و سپس افزایش یافت که بیشترین میزان قطر برگ مربوط به سطح MAD 60 خشکی با میانگین ۰/۰۳۵ بود. قطر برگ همچنین تحت تأثیر تیمار مایکوریزا قرار گرفت به‌طوری که میزان قطر برگ در قارچ‌ریشه‌های موسه، ورتیفرم و اینترارادیس کاهش یافت و با شاهد اختلاف معنی دار داشت اما در قارچ گломوس ورتیفرم قطر برگ نسبت به شاهد کاهش پیدا نکرد و اختلاف معنی داری از نظر آماری دیده نشد (شکل ۳).

راه حفظ نسبی رشد ریشه افزایش می‌دهند و به‌این‌ترتیب مقدار آب خاک بیش‌تری در اختیار گیاه قرار می‌گیرد. همچنین در پتانسیل‌های آبی پایین که برخی ریشه‌ها همچنان به رشد خود ادامه می‌دهند، رشد شاخه‌ها به‌طور کامل متوقف می‌شود (۱۷). نویسندگان متعددی نشان داده‌اند که محتوای آب کم خاک توسعه‌ی ریشه را در درختان بادام (۱) و زردآلو (۲۴) کاهش می‌دهد که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشند.

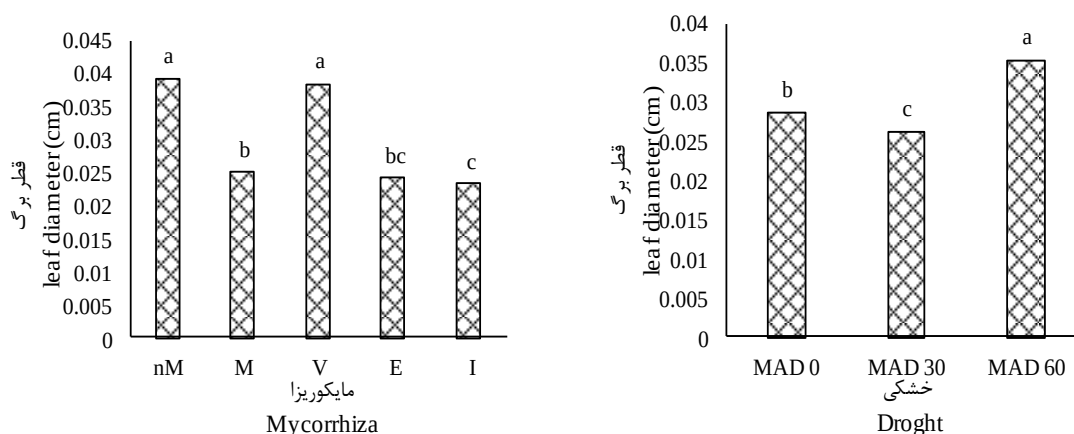
نتایج نشان داد گیاهان دارای مایکوریزا نسبت به گیاهان بدون مایکوریزا سطح برگ بیش‌تری دارند (MAD 0) و با شاهد (بدون مایکوریزا) دارای اختلاف معنی دار می‌باشند. قارچ‌ریشه‌های گломوس موسه، ورتیفرم و اتونیکیتوم از نظر سطح برگ تفاوتی از نظر آماری نداشتند. با اعمال تیمار خشکی سطح برگ کاهش یافت که نسبت به شاهد (MAD 0) دارای اختلاف معنی دار بود. در سطح MAD 30 خشکی تفاوتی بین قارچ‌ریشه‌های استفاده شده در این آزمایش و عدم

سطح ویژه برگ در گیاهان دارای مایکوریزا نسبت به گیاهان بدون مایکوریزا بیش‌تر بود که از نظر آماری نیز معنی دار شد. تفاوتی بین گونه‌های قارچ استفاده شده در آزمایش در سطوح MAD 0 و MAD 30 مشاهده نشد هرچند بیشترین میانگین سطح ویژه برگ (۱۷۸/۸ میلی متر مربع) مربوط به قارچ‌ریشه موسه بود. سطح ویژه برگ در سطح MAD 60 در قارچ‌های موسه، ورتیفرم و اتونیکیتوم به‌طور معنی داری کاهش یافت از طرفی این کاهش در گیاهان بدون مایکوریزا و قارچ‌ریشه اینترارادیس دیده نشد (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف کم آبیاری بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD) و گونه‌های میکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) بر سطح ویژه برگ انگور رقم 'عسگری'

Figure 2- Effect of different irrigation levels on the basis of moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD) and mycorrhiza species (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) on the Special leaf area of grapevine cv. 'Asgari'



شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف کم آبیاری بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD) و گونه‌های میکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) بر قطر برگ انگور رقم 'عسگری'

Figure 3- Effect of different irrigation levels on the basis of moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD) and mycorrhiza species (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) on the leaf diameter of grapevine cv. 'Asgari'

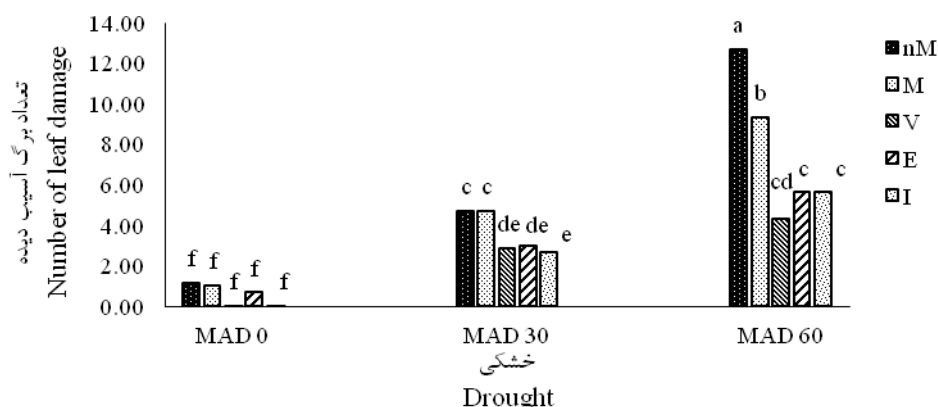
ویژه برگ یکی از متغیرهای با ارزش در مدل‌سازی از نحوه رشد گیاه است زیرا ارتباط بین تولید ماده خشک و سطح فتوسنتز کننده گیاه را نشان می‌دهد و برآوردی از قطر برگ می‌باشد. قطر برگ نقش مهمی در عملکرد برگ و گیاه دارد. میزان نور جذب شده و میزان انتشار دی‌اکسید کربن درون بافت‌های مزوفیل تاحدی به ضخامت برگ بستگی دارد. کاهش سطح مخصوص برگ در نتایج پژوهش‌های پیشین نیز دیده می‌شود (۹ و ۱۶). کاهش سطح مخصوص برگ می‌تواند ناشی از این واقعیت باشد که به دلیل تأثیر منفی تنش، تولید مواد فتوسنتزی و انرژی موجود بجای صرف شدن در مسیر رشد برگ، صرف ایجاد تنظیم اسمزی در برگ می‌گردد که خود نیاز به صرف انرژی فتوسنتزی دارد. پژوهش‌های پیشین نشان داده که تجمع بیش

در اثر تنش خشکی تعداد برگ آسیب دیده افزایش یافت به طوری که در عدم کاربرد میکوریزا (گیاهان بدون میکوریزا) میزان افزایش در تعداد برگ آسیب دیده از صفر MAD به ۶۰ MAD برابر ۹۰/۷ درصد بود. در گیاهان همزیست با میکوریزا نیز در اثر افزایش سطح تنش خشکی میزان آسیب به برگ افزایش یافت به طوری که بیشترین تعداد برگ آسیب دیده در این گیاهان در ۶۰ MAD مشاهده گردید. به طور کلی میکوریزا باعث کاهش تعداد برگ‌های آسیب دیده نسبت به گیاهان بدون میکوریزا شد که اختلاف بین آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل ۴).

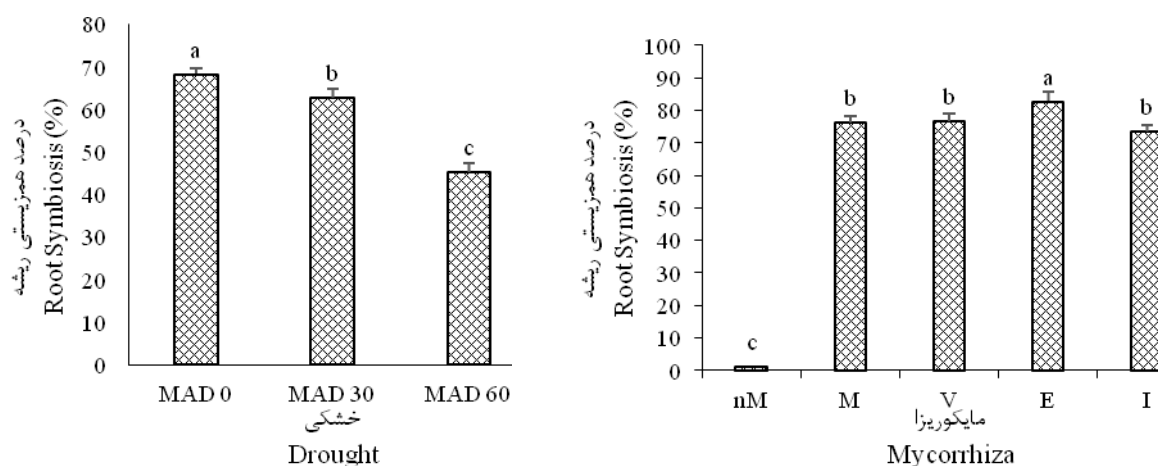
سطح ویژه برگ در سطح ۶۰ MAD به طور معنی‌داری کاهش یافت و قطر یا ضخامت برگ نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت، سطح

گیاه و برخی پاسخ‌های مورفولوژی می‌گردد (۱۸).
اثرات ساده تیمارهای اعمال شده (تنش خشکی و نوع میکوریزا) بر درصد همزیستی قارچ‌ریشه‌ها معنی‌دار شد (شکل ۵). بر اساس نتایج درصد همزیستی در قارچ‌های موسه، ورسیفورم، اتونیکتوم و اینترادیس به ترتیب ۷۶/۱۱، ۷۶/۶۷، ۸۲/۷۸ و ۷۳/۳۳ درصد بود که قارچ اتونیکتوم به‌طور معنی‌داری دارای همزیستی بیشتری با گیاه انگور بود (شکل ۵، الف). درصد همزیستی ریشه در اثر تنش خشکی کاهش یافت، میزان کاهش درصد همزیستی در ۶۰ MAD نسبت به شاهد (صفر MAD) ۳۳ درصد بود (شکل ۵، ب).

از حد اسمولیت‌های آلی و غیر آلی در برگ، اگرچه سبب ایجاد تنظیم اسمزی در برگ می‌شود اما بر فرایند اسیمیلایون کربن تأثیر منفی دارد (۹). در آزمایش حاضر سطح مخصوص برگ چه در گیاهان میکوریزی و چه در گیاهان بدون میکوریز کاهش یافت که نشان‌دهنده‌ی افزایش ضخامت برگ می‌باشد. مطابق آزمایشات صورت گرفته، دلیل افزایش وزن مخصوص برگ می‌تواند ناشی از تجمع کربوهیدرات‌های غیر ساختاری و همچنین ترکیبات تنظیم کننده اسمزی باشد که سبب کاهش پتانسیل آب برگ و افزایش وزن مخصوص برگ می‌گردد (۹). به‌طور کلی کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی تحت شرایط خشکی باعث محدود شدن رشد



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف کم‌آبایی بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD) و گونه‌های میکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) بر تعداد برگ آسیب دیده انگور رقم 'عسگری'
Figure 4- Effect of different irrigation levels on the basis of moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD) and mycorrhiza species (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) on the Number of leaf damage of grapevine cv. 'Asgari'



شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف کم‌آبایی بر اساس میزان رطوبت بین ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی دائم (MAD) و گونه‌های میکوریزا (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) بر درصد همزیستی ریشه انگور رقم 'عسگری'
Figure 5- Effect of different irrigation levels on the basis of moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD) and mycorrhiza species (NM= non mycorrhizal, M= *G. mosseae*, I= *G. intraradices*, E= *G. etunicatum*, V= *G. versiform*) on the Root Symbiosis of grapevine cv. 'Asgari'

سلول‌های کلونیزه شده است (طویل شدن قطری و فساد موی ریشه). ریشه قارچ که در ریزوسفر رشد می‌کند تشکیل ریشه کوتاه متراکم را القا می‌کند که وسیله‌ای برای افزایش ناحیه تماس و زیست‌خوان برای میزبان شدن ریشه کلونیزه کننده را فراهم می‌کند. قارچ قادر است که اتیلن و اکسین را تولید کند که ریخت‌زایی ریشه گیاه را تنظیم می‌کند که کوتاه شدن و منشعب شدن ریشه اولیه را القا می‌کند (۱۴). به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده تیمارهای قارچ‌ریشه و آبیاری ۱۰۰ درصد باعث افزایش شاخص‌های اندازه‌گیری شده در آزمایش (ارتفاع، وزن تر و خشک ریشه، برگ و ساقه) کاهش یافت به طوری که میزان کاهش در گیاهان بدون قارچ ریشه بیشتر از گیاهان همزیست با قارچ ریشه بود. استفاده از قارچ‌ریشه در این پژوهش باعث کاهش اثرات مخرب کم آبیاری بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاه انگور شد که در این بین قارچ‌ریشه‌های ورسیفورم و اتونیکیتوم بهتر از قارچ‌ریشه‌های موسه و اینترارادیس بودند.

مطالعات زیادی نشان داده که همزیستی قارچ‌های میکوریز باعث افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی می‌شود (۲۰). مکانیسم مقاومت به تنش خشکی توسط مایکوریزا شامل جذب و انتقال آب از میان ریشه‌های قارچ به داخل گیاه میزبان می‌باشد. هیف‌های باریک قارچ می‌توانند به داخل منافذ خارج از دسترس تارهای کشنده ریشه نفوذ کنند، بنابراین آبی را که خارج از دسترس گیاهان غیر مایکوریزا است جذب کند (۱۹). قارچ مایکوریزا مواد فتوسنتزی را از گیاه میزبان جذب می‌کند تا دوره زندگی خود را تکمیل کند و در مقابل به گیاهان در جذب آب و مواد معدنی کمک می‌کند. بنابراین، گیاهان AM عموماً توانایی بهتری برای جذب مواد غذایی و تحمل تنش خشکی نشان می‌دهند (۲۷). همزیستی با AM مثال خوبی از تغییرات مورفولوژیکی گسترده است که سلول‌های ریشه گیاه برای تطبیق با حضور همزیست داخلی برقرار می‌کنند و بیشتر این تغییرات با سیستم واکوئلی یا سیتوپلاسمی مرتبط است. مشاهدات ریخت‌شناسی ECMs نشان داده‌اند که معماری ریشه گیاه میزبان اساساً تغییر می‌کند، که به صورت ریشه‌های کوتاه متراکم و تمایز سلولی

منابع

- 1- Abrisqueta J.M., Hernansaez A., and Franco J.A. 1994. Root dynamics of young almond tree under different drip irrigation rates. *Journal of Horticultural Science*, 69: 237-242.
- 2- Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L.C., Saleem M.F., Man C., and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6: 2026-2032.
- 3- Atkinson D., and White G.C. 1980. In the mineral nutrition of fruit trees. Butterworth, pp. 241-254.
- 4- Bahar E., Carbonneau A., and Korkutal I. 2011. The effect of extreme water stress on leaf drying limits and possibilities of recovering in three grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars. *African Journal of Agricultural Research*, 6: 1151-1160.
- 5- Bayulo J.S., Debouck D.G., and Lynch J.P. 2003. Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of Phaseolus species grown under saline condirion. *Field Crops Research*, 80:207-222.
- 6- Bowen P.A., and Kliewer W.M. 1990. Influence of clonal variation, pruning severity, and cane structure on yield component development in Cabernet Sauvignon grapevines. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 115(4): 530-534.
- 7- Cabuslay G.S., Ito O., and Alejal A.A. 2002. Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. *Journal of Plant Science*, 63: 815-827.
- 8- Colom M.R., and Vazzana C. 2001. Drought stress effects on three cultivars of *Eragrostis curvula*: Photosynthesis and water relations. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34: 195-202.
- 9- Cornelissen J.H.C., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D.E., Relch P.B., Steegh H.T., and Morgan H.D. 2003. Handbook of protocols for standardized and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51: 335-380.
- 10- Davies W.J., Zhang J., Yang J., and Dodd I.C. 2010. Foresight projection global food and farming futures novel crop science to improve yield and resource use efficiency in water-limited agriculture. *Journal of Agricultural Science*, 18 (6): 1-9.
- 11- Davis W.J., and Volkenburg E. 1995. The influence of water deficit on the factors controlling the daily pattern of growth of bean. *Experimental Botany*, 54: 987-999.
- 12- Du T.S., Kang S.Z., Zhang J.H., Li F.S., and Yan B.U. 2008. Water use efficiency and fruit quality of table grape under alternate partial root-zone drip irrigation. *Agricultural Water Management*, 95: 659-668.
- 13- Fttahi M., Shamshiri M.H., and Esmaeilzade M. 2014. Evaluation of Leaf Physiomorphological Responses of Three Pistachio Rootstocks inoculated with Arbuscular Mycorrhizae to Salt Stress. *Iranian Horticulture*, 15(5): 469-482.

- 14- Felten J., Kohler A., Morin E., Bhalerao R.P., and Palme K. 2009. The ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* stimulates lateral root formation in poplar and *Arabidopsis* through auxin transport and signaling. *Plant Physiol*, 151(4): 1991–2005.
- 15- Fernandez G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. P. 257-270, In: Kuo, C.G (ed), adaptation of food crop to temperature and water stress. AVRDC, Shanhua, Taiwan.
- 16- Karlberg L., Bengal A., Jansson P., and Shani U. 2006. Modelling transpiration and growth in salinity-stressed tomato under different climatic conditions. *Ecology Modelling*, 190: 15-40.
- 17- Kirnak H., Kaya C., Tas I., and Higgs D. 2001. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants Bulgarian. *Journal of Plant Physiology*, 27(3–4): 34–46.
- 18- Levitt J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. II. Water radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York.
- 19- Li T., Sun Y., Ruan Y., Xu L., Hu Y., Hao Z., Zhang X., Li H., Wang Y., Yang L., and Chen B. 2016. Potential role of D-myo-inositol-3-phosphate synthase and 14-3-3 genes in the crosstalk between *Zea mays* and *Rhizophagus intraradices* under drought stress. *Mycorrhiza*, Vol 48 pp142-158.
- 20- Liu Z., Lia Y., Maa L., Weic H., Zhangd J., Hee X., and Tiana C. 2014. Coordinated regulation of arbuscular mycorrhizal fungi and soybean MAPK pathway genes improved mycorrhizal soybean 2 drought tolerance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. pp153-174.
- 21- Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment*, 25: 239–250.
- 22- Nuzzo U., Xiloyannis C., Dichio B., Montanaro G., and Cileano G. 1997. Growth and yield in irrigated and non-irrigated olive tree cv. Coratina over four years after planting. *Acta Horticultural*, 449: 75-82.
- 23- Phillips J., and Hyman D. 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br Mycol Soc*, 55: 158-161.
- 24- Ruiz-Canales A., Franco J.A., Plana V., and Abrisqueta J.M. 2006. Root distribution in apricot orchard (*Prunus armeniaca* L. 'Bulida') under trickle irrigation. *International Society for Horticultural Science Acta Horticulturae*, 717: 307–311.
- 25- Remy W., Taylor T.N., Hass H., and Kerp H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 11841–11843.
- 26- Sebastiana M., Vieira B., Lino-Neto T., Monteiro F., Figueiredo A., Sousa L., Salome´Pais M., Tavares R., and Paulo O. 2014. Oak Root Response to Ectomycorrhizal Symbiosis Establishment: RNA-Seq Derived Transcript Identification and Expression Profiling. *PLOS ONE*, 9(5): 1-13.
- 27- Ruiz-Lozano J.M., Aroca R., Zamarrero A.M., Molina S., Andreo-Jimenez B., and Porcel R. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant Cell and Environment*, 5: 1-12.
- 28- Shamim A., Rashid A., Muhammad Y.A., Ashraf M., and Ejaz A.W. 2009. Sunflower (*Heliantus annus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stage. *Pakistan Journal of Botany*, 41: 647-654.
- 29- Thomas M.T., and Gausling T. 2000. Morphological and physiological responses of oak (*Quercus petraea* and *Q. robur*) to moderate drought. *Annals for Sciences*, 57: 325-333.
- 30- Xiong L., Lee H., Ishitani M., and Zhu J.K. 2002. Regulation of osmotic stress responsive gene expression by the LOS6/ABA1 locus in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 8588–8596.



Effects of Deficit Irrigation on Some Morphological Characteristics of Grape (*Vitis vinifera* cv. 'Asgari') Symbiosis with Arbuscular Mycorrhizal

M. Fattahi ^{1*}- A. Mohammadkhani ²

Received: 28-01-2018

Accepted: 24-10-2018

Introduction: Abiotic stresses, in particular drought, not only compromise crop quality and limit yield, but also restrict the geographical range over which crop production is viable. Plant species have evolved a number of physiological and molecular means to cope with adverse environmental conditions. Grapevine is a perennial crop grown in various areas around the world. It is highly responsive to local environmental conditions and viticultural practices. Abiotic stresses cause extensive losses to agricultural productivity. Grapevine is no exception to the rule and faces several abiotic stresses throughout its lifespan. Drought, salinity, or heavy metals are serious problems in many parts of the world. The potential of AMF to enhance plant tolerance to abiotic stress conditions has long been known, and their use in sustainable agricultural systems will be of tremendous importance for soil quality and crop productivity under severe edapho-climatic conditions. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), a kind of beneficial soil microorganism, can create a symbiotic association with plant roots forming arbuscular mycorrhizas (AMs), which play a role in the regulation of plant growth. This research was carried out in order to determine the effect of deficit irrigation on morphological characteristics of grapevine 'Asgari' cultivar in greenhouse conditions in 2016.

Materials and Methods: The layout was as a factorial experiment in a completely randomized design with three replication and two factors, including Arbuscular mycorrhizal and irrigation regimes. Irrigation treatments were irrigation with 100% moisture content of field capacity (control), 70% moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD 30) and 40% moisture content between field capacity and permanent wilting point (MAD 60) and mycorrhizal treatments was including non-use of mycorrhizal and use of *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. etunicatum* and *G. versiform*. Some morphological traits including height, root length, root volume and root density, fresh and dry weight of leaf, stem and root, leaf area, number of leaf damage, leaf area, leaf diameter and symbiosis percent of grape roots with fungi were measured.

Results and Discussion: The results showed that mycorrhizal and 100% irrigation treatments increased the fresh and dry weight of leaf, stem and root, leaf area and the percentage of mycorrhizal symbiosis. Due to irrigation, the indices measured in the experiment such as height, fresh and dry weight of root, leaf and stem decreased, so that the decrease in without mycorrhizal plants was more than the with mycorrhizal plants. Generally, the use of mycorrhiza in this research has reduced the damaging effects of water stress on the morphological characteristics of grapevine, which in between the *G. versiform* and *G. etunicatum* were better than the *G. mosseae* and *G. intraradices*.

Conclusion: Grapevine phosphorus deficiency is usually rarely observed, not only mainly because of limited phosphorus requirement, but also because of sufficient phosphorus richness in the majority of vineyard soils and remobilization from bark, wood, and roots during periods of high P demand. Nevertheless, P deficiency have been described in vineyards in Australia, France, Germany and USA. Phosphorus deficiency symptoms correspond to stunt shoot growth, decrease in dry matter, and berry clusters.

Mycorrhizal treatments helped in alleviation of drought stresses. Enhanced uptake and storage of P, beyond what is required for immediate vegetative growth may be of particular importance for heavily pruned crops like grapes, since most of the new shoot growth is removed every year. These results were achieved in the greenhouse under almost controlled conditions and can be difficult to suggest for applying in the field conditions. Such experiments may be organized in the field conditions.

Present-day vineyard practices place several constraints on the use of functions provided by mycorrhiza. The risk of large, costly, or irreversible changes is to be reduced or averted. Future (modern) agriculture should be based on the

1 and 2- Ph.D. Student and Associate Professor of Horticultural Sciences, Department of Horticulture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

(*- Corresponding Author Email: Ma.fatahi67@gmail.com)

implementation of ecological management practices that deliberately maintain resilience of ecosystem services. This means integrating the development of vineyard management strategies that optimize the impact of beneficial microbes like mycorrhizal fungi on production. Furthermore, AMF vary in their ability to provide ecological services so that suitable tools have to be defined to fully assess their contribution. Molecular tools have considerably improved the possibility to identify and monitor mycorrhizal fungi in ecosystems, but a quick and reliable test for assessing their functionality is still lacking. For producers' expectations to be met, a novel industry encompassing soil/mycorrhiza analyses and advice to producers/managers is needed. Additional barriers to rationally exploiting beneficial soil microbes like mycorrhizal fungi as ecosystem services range from economical, technical, and cultural aspects to legislative questions. In spite of this, considerable progress has been made in the last decade for crop plants in general, but also for grapevine, towards the use of AMF.

Keywords: Drought, Grapevine, Morphology, Mycorrhiza



بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برتر گردو بر اساس صفات مورفولوژیکی میوه و نشانگرهای ISSR در منطقه شاهرود

فاطمه داوودی^۱ - مهدی رضائی^{۲*} - پرویز حیدری^۳ - حسین حکم آبادی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۷/۰۷

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی، شناسایی و معرفی ژنوتیپ‌های برتر گردو در ایران به‌عنوان یکی از تولیدکنندگان اصلی گردو و منشأ این گیاه، از اهمیت زیادی برخوردار است. از سال ۱۳۷۶ بذور ژنوتیپ‌های منتخب گردو از مناطق مهم گردوکاری ایران در کلکسیون گردوی مرکز تحقیقات سمنان (شاهرود) کشت شدند. از این دانه‌ها ۲۱ ژنوتیپ برتر با ویژگی‌های مناسب میوه انتخاب شدند و روی دانه‌های بذری پیوند شدند. در این پژوهش علاوه بر معرفی ویژگی‌های مهم میوه این ژنوتیپ‌ها، تنوع ژنتیکی آن‌ها با ۱۰ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت. میانگین وزن میوه و وزن مغز در ژنوتیپ‌های انتخابی به ترتیب ۱۴/۳۴ و ۷/۳۳ گرم بود. بیشترین میزان وزن میوه و مغز به ترتیب به میزان ۱۷/۵۰ و ۱۰/۳ گرم در ژنوتیپ OR23 مشاهده شد. میانگین درصد مغز گردوهای برگزیده ۵۱/۱۷ درصد بود. بیشترین میزان درصد مغز (۶۲/۷ درصد) در ژنوتیپ T₁₂ مشاهده شد. از ده آغازگر ISSR در ۲۱ ژنوتیپ برتر گردو ۱۱۲ باند ایجاد شد که از این تعداد، ۱۰۲ باند چندشکلی را نشان دادند و برای آنالیز تنوع ژنتیکی استفاده شدند. بیشترین تعداد باند در آغازگرهای UBC.826 و UBC.888 با ۱۴ باند مشاهده شد. بیشترین قدرت تفکیک‌کنندگی به میزان ۷/۷۱ در آغازگر UBC.826 و پس از آن در آغازگر UBC.887 مشاهده شد. ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۵۱ تا ۰/۸۸ متغیر بود. دندروگرام تنوع ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ گردو را به دو گروه اصلی و سه گروه فرعی در گروه اول تقسیم‌بندی نمود که با میزان زیادی با نتایج دسته‌بندی آنالیز به مؤلفه‌های اصلی تطابق داشت. نتایج نشان داد فاصله ژنتیکی متوسطی بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد و ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از مناطق ارومیه و تویسرکان فاصله ژنتیکی بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارند که با توجه به خصوصیات برتر می‌توانند به‌عنوان والدین با ژنوتیپ‌های انتخابی از منطقه شاهرود در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، تنوع مورفولوژیکی، گردو، نشانگرهای مولکولی

مقدمه

داده‌اند (۵). بهترین گونه این جنس گردوی ایرانی *J. regia* است که اهلی شدن آن از کشورهای ایران و افغانستان آغاز شده است (۴). به‌علاوه مناطقی از آمریکا جنوبی و شمالی به‌عنوان مراکز گسترش سایر گونه‌های گردو شناخته شده است (۱). طبق گزارش فائو، ایران با تولید ۰/۴ میلیون تن گردوی خشک به عنوان سومین تولیدکننده مهم گردو پس از چین و ایالات متحده آمریکا مطرح است (۹). با توجه به ژرم‌پلاسم غنی و متنوع گردو در کشور، اولین قدم در برنامه‌های اصلاحی گردو شناسایی و گزینش ژنوتیپ‌های امیدبخش و برتر است. از روش‌های متنوعی جهت بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های گیاهی استفاده می‌شود. استفاده از نشانگرهای مولکولی و بررسی خصوصیات مورفولوژیکی از جمله روش‌های مناسب جهت بررسی ژرم‌پلاسم‌های گردو در سراسر جهان است (۷). خصوصیات مورفولوژیکی به دلیل تأثیرپذیری از شرایط محیطی به تنهایی روش مناسبی در شناسایی ارقام نیستند؛ از این رو

گردو از گیاهان مهم اقتصادی است و مغز گردو ارزش غذایی بالایی به جهت ظرفیت بالای آنتی اکسیدانی و اسیدهای چرب مفید دارد (۲۴). گردو از جنس *Juglans* می‌باشد که دارای ۲۱ گونه است. بر اساس تنوع مشاهده شده بین جمعیت‌های مختلف گردو، منشأ گونه‌های این جنس را به آسیای مرکزی و نواحی اطراف آن نسبت

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

(*)- نویسنده مسئول: (Email: mhrezaei@shahroodut.ac.ir)

۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۴- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)

(تویسرکان، ارومیه، کرج و استان خراسان) جمع‌آوری شده بودند در کلکسیون گردو مرکز تحقیقات شاهرود در سال ۱۳۷۶ کشت شدند. این ژنوتیپ‌ها حاصل از دانه‌های گرفته شده از درختان مادری با ویژگی‌های برتر میوه بودند. دانه‌ها در شرایط کاملاً یکسان از نظر تغذیه و آبیاری پرورش یافتند و پس از باردهی از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۴ مورد بررسی قرار گرفتند و ۲۱ ژنوتیپ بر اساس خصوصیات میوه و سازگاری به شرایط آب و هوایی شاهرود انتخاب گردید و روی پایه‌های بذر پیوند شدند (جدول ۱). صفات مهم میوه همچون میانگین وزن خشک میوه، وزن مغز، درصد مغز، رنگ مغز، چسبندگی پوسته با مغز، ضخامت پوسته و اندازه خشک میوه با استفاده از توصیف نامه بین‌المللی^۲ IPGRI در ژنوتیپ‌های انتخابی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری هر صفت مربوط به میوه از هر درخت ۲۵ عدد میوه گردو به صورت تصادفی جمع‌آوری و میانگین آن در آنالیز آماری استفاده شد.

نمونه‌گیری و استخراج DNA

جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گردو انتخاب شده، ابتدا برگ‌های جوان در فصل بهار جمع‌آوری شدند و بلافاصله در ازت مایع قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند و در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد جهت حفظ و جلوگیری از تخریب نمونه‌ها قرار داده شدند. استخراج DNA از بافت‌های برگ‌ها با استفاده از روش CTAB با اندکی تغییرات (۱۳) انجام گردید. کیفیت و کمیت DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ (IMPLEN N-60) و ژل آگارز ۰/۸ درصد صورت گرفت. غلظت نهایی تمامی DNA های استخراج شده جهت انجام واکنش زنجیره پلیمرز (PCR) به ۳۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. ۱۰ آغازگر ISSR که دارای چند شکلی کافی روی سایر محصولات بودند (۲۰-۳۴) جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های انتخابی گردو استفاده شد (جدول ۲).

واکنش PCR

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Biorad T100TM) در حجم ۱۵ میکرولیتر با استفاده از مسترمیکس ساخت شرکت (ویراژن) انجام گرفت. ارزیابی محصولات تکثیر PCR توسط ژل آگارز متافور (۲ درصد) با بالاترین قدرت جداسازی قطعات و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید انجام شد. پس از آشکارسازی باندها، از دستگاه ژل داک (Gel Doc Vilber E-box-CX5) جهت اسکن ژل استفاده شد. امتیازدهی باندها با استفاده از روش صفر (عدم حضور باند) و یک (حضور باند) صورت گرفت.

استفاده توأم از خصوصیات مورفولوژی و نشانگرهای مولکولی توصیه شده است (۸). استفاده از نشانگرهای مولکولی اطلاعات مفیدی با ضریب اشتباه کم را جهت بررسی تنوع درون و بین جمعیت‌های گیاهی فراهم می‌کند. آغازگرهای^۱ ISSR (نواحی بین توالی‌های تکراری ساده) از جمله نشانگرهای مولکولی پر کاربرد و کم هزینه هستند که در بررسی تنوع ژنتیکی، بیولوژی تکاملی و تهیه نقشه‌های ژنتیکی استفاده می‌شوند (۶). آغازگرهای ISSR جهت بررسی تنوع ژنتیکی در بسیاری از گیاهان از جمله زیتون (۲۹)، توت (۳۳) و گردو سیاه (۳۴) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در پژوهشی ژنوتیپ‌های گردو ایرانی در باغات تجاری مشهد با نه آغازگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنوع بین این ژنوتیپ‌ها پایین است و دخالت‌های انسانی بعنوان عامل تاثیرگذار بر تنوع معرفی شد (۳). پلی جینی و همکاران (۲۰) با استفاده از نه آغازگر ISSR واریته‌های گردو در چهار منطقه در ایتالیا را بررسی کردند. از نه آغازگر مورد بررسی ۱۱۵ قطعه DNA چند شکل بدست آمد که برای آنالیز تنوع مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که هرچند واریته‌های شمال و جنوب ایتالیا بسیار متمایز بودند ولی از لحاظ فاصله ژنتیکی همبستگی بالایی را نشان دادند. همچنین ۵۹ ژنوتیپ انتخابی گردو به همراه ارقام بین‌المللی آن با آغازگرهای^۲ SSR، RAPD و ISSR مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که چندشکلی ایجاد شده توسط آغازگرهای ISSR با RAPD تقریباً برابر بود و ۲۵ آغازگر ISSR استفاده شده بیش از ۷۰٪ چندشکلی را نشان دادند (۷). بررسی تنوع ژنتیکی ۵۸ ژنوتیپ گردو در یونان با استفاده از آغازگرهای ISSR به خوبی توانست ژنوتیپ‌ها را بر اساس مناطق جغرافیای تفکیک کند و فاصله ژنتیکی ۰/۱۳ تا ۰/۹۳ بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد (۶).

از آنجایی که ایران یکی از مهمترین مناطق تنوع گردو در جهان می‌باشد؛ در یک طرح پژوهشی، ژنوتیپ‌های برتر گردو از مناطق مهم گردو کاری ایران انتخاب و در کلکسیونی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی استان سمنان (شاهرود) در سال ۱۳۷۶ کشت شدند. با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه شاهرود ژنوتیپ‌های امیدبخشی بر اساس خصوصیات میوه انتخاب شدند. از این رو در این پژوهش سعی شده است که علاوه بر معرفی خصوصیات مهم میوه این ژنوتیپ‌های برتر، تنوع ژنتیکی و قرابت آنها در سطح ژنوم با آغازگرهای ISSR مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

۴۰ ژنوتیپ انتخابی که از مناطق مهم گردو کاری ایران

2- International Plant Genetic Resources Institute

1- Inter simple sequence repeat

جدول ۱- کد و محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌های انتخاب شده گردو
Table 1- The code and location of selected walnut genotypes

شماره ژنوتیپ Genotype number	کد ژنوتیپ Genotype code	محل جمع‌آوری Collecting location
1	T ₉	تویسرکان Tuyserkan
2	T ₁₂	
3	T ₁	
4	SH ₁	
5	R ₂ G ₈	
6	R ₂ G ₅	
7	R ₂ G ₄	
8	R ₂ G ₃	شاهرود Shahrood
9	R ₂ G ₁	
10	R ₁ G ₇	
11	R ₁ G ₆	
12	R ₁ G ₂	
13	OR ₄	
14	OR ₃₇	ارومیه Urmia
15	OR ₂₆	
16	OR ₂₃	
17	KH ₄	خراسان Khorasan
18	KH ₃₄	
19	KH ₃₁	
20	K ₂₈	کرج Karaj
21	K ₂₆	

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای ISSR مورد استفاده
Table 2- Characteristics of ISSR primers

شماره Number	نام نشانگر Name of Marker	توالی جفت آغازگر Sequence of primers	دمای اتصال Annealing temperature (°C)
1	UBC.853	TCT CTC TCT CTC TCT CRT	50
2	UBC. 886	VDV CTC TCT CTC TCT CT	52
3	UBC.850	GTG TGT GTG TGT GTY C	52
4	UBC.890	VHV GTG TGT GTG TGT GT	54
5	UBC.887	DVD TCT CTC TCT CTC TC	50
6	UBC.826	ACA CAC ACA CAC ACA CC	54
7	S.14	AGA GAG AGA GAG AGA GT	48
8	UBC.884	HBH AGA GAG AGA GAG AG	48
9	UBC.480	GAG AGA GAG AGA GAG AYT	53
10	UBC.888	DBD CAC ACA CAC ACA CA	54

Y = (C,T), R = (A,G), B = (C,G,T), D = (A,G,T), V(A, C, G), H(A, T, C)

ژنوتیپ به صورت داده‌های بایناری یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) در نرم‌افزار Excel 2013 ثبت گردید. برای هر آغازگر

داده‌برداری و آنالیز داده‌ها
داده‌برداری از روی باندهای مشاهده شده با کیفیت برای هر

دامنه باندهای تکثیری، تعداد کل باند، تعداد باندهای چند شکل، درصد چند شکلی، میانگین باندهای دارای اطلاعات^۱ (AvIb) و قدرت تفکیک کنندگی^۲ (Rp) تعیین گردید. میانگین باندهای دارای اطلاعات نشان دهنده رابطه بین وجود یک باند در ۵۰ درصد ژنوتیپ‌های تحت مطالعه است و قدرت تفکیک کنندگی از مجموع باندهای دارای اطلاعات (Ib) که توسط یک آغازگر تکثیر می‌شوند، بدست می‌آید (۲۳). ماتریس تشابه ژنتیکی و دندروگرام تنوع ژنتیکی به ترتیب توسط روش جاکارد و روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار Ntsys 2.0 (۲۶) انجام شد. آنالیز تجزیه به مؤلفه‌ها^۳ بر اساس ماتریس فاصله ژنتیکی و با نرم‌افزار GenAlex 6.2 صورت پذیرفت (۱۹).

نتایج و بحث

خصوصیات مهم میوه ژنوتیپ‌های گردو

بررسی خصوصیات مهم میوه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که میانگین وزن میوه و وزن مغز در ژنوتیپ‌های انتخابی به ترتیب ۱۴/۳۴ و ۷/۳۳ گرم است. به‌طوری‌که بیشترین میزان وزن میوه (۱۷/۵۰ گرم) در ژنوتیپ OR₂₃ مشاهده شد که بیشتر از مقدار گزارش شده (۱۵/۲۵ گرم) توسط ارزانی و همکاران (۲) و کمتر از مقدار گزارش شده توسط شاملو و همکاران (۲۸) با مقدار ۱۹/۷۹ گرم و ابراهیمی و همکاران (۸) با مقدار ۷/۱۷ گرم بود. کمترین میزان وزن میوه (۱۲/۱۰ گرم) در ژنوتیپ R₁G₆ مشاهده گردید. بیشترین میزان وزن مغز (۱۰/۳ گرم) در ژنوتیپ OR₂₃ و کمترین میزان وزن مغز (۵/۳ گرم) در ژنوتیپ KH₃₁ مشاهده شد. وزن مغز میوه در ژنوتیپ OR₂₃ بیشتر از حداکثر وزن مغز گزارش شده توسط شاملو و همکاران (۲۸) به میزان ۹/۴۸ گرم، ابراهیمی و همکاران (۸) به میزان ۷/۸۸ گرم، یاریلگاک و همکاران (۳۵) به میزان ۹/۸ گرم و ترموریس و همکاران (۳۲) به میزان ۶/۳۲ گرم بود. میانگین درصد مغز گردوهای انتخابی ۵۱/۱۷ درصد بود. بیشترین میزان درصد مغز (۶۲/۷ درصد) در ژنوتیپ T₁₂ مشاهده شد (جدول ۳) که بیشتر مقدار گزارش شده توسط شاملو و همکاران (۲۸) (۶۰/۳۴ درصد) و بالاتر از مقدار گزارش شده توسط یاریلگاک و همکاران (۳۵) (۵۹/۲۷ درصد) بود. بیشترین میزان واریانس و انحراف معیار در درصد مغز میوه مشاهده شد (جدول ۳). میزان واریانس نشان دهنده تنوع موجود در ژنوتیپ‌های مورد بررسی است که هر چه میزان واریانس بیشتر باشد، تنوع بیشتری از لحاظ آن صفت در میان ژنوتیپ‌ها وجود دارد.

براساس اندازه‌گیری‌های انجام شده میانگین طول و قطر میوه به ترتیب ۳/۷۲ و ۳/۴۶ سانتی‌متر بدست آمد. بیشترین طول و عرض میوه در بین ژنوتیپ‌ها مربوط به ژنوتیپ KH₃₁ با طول ۴/۳ سانتی‌متر و عرض ۳/۹ سانتی‌متر بود (جدول ۳). از لحاظ شکل میوه، بیشتر ژنوتیپ‌های انتخابی تخم مرغی شکل و برخی گرد بودند. تنها ژنوتیپ OR₄ دارای شکل میوه مستطیل کوتاه است و ژنوتیپ‌های OR₂₆ و K₂₆ دارای شکل میوه بیضوی بودند (جدول ۳). از نظر شکل برجستگی‌های روی پوسته میوه تنها ژنوتیپ R₂G₁ دارای سطح میوه برجسته‌تر بود و بقیه ژنوتیپ‌ها پوست میوه آنها صاف و تا کمی برجسته (متوسط) بودند. میزان چسبندگی مغز به پوسته یکی از فاکتورهای کلیدی در بازاریابی میوه گردو محسوب می‌شود که به غیر از ژنوتیپ K₂₆ در سایر ژنوتیپ‌ها مغز با چسبندگی بسیار کم و یا کم می‌باشد (جدول ۳). از لحاظ ضخامت پوسته تنها ژنوتیپ‌های OR₂₆، T₁، K₂₆ و R₂G₈ میوه‌هایی با پوست ضخیم داشتند که میزان بازاریابی را در این ژنوتیپ‌ها کاهش می‌دهد. به لحاظ صفت رنگ مغز بیشتر مردم ایران طرفدار رنگ‌های روشن هستند و آنرا حاکی از کیفیت مطلوب می‌دانند در حالی‌که آمریکایی‌ها کهربایی را بیشتر می‌پسندند (۱۶). در این بررسی ژنوتیپ‌های OR₂₃، T₁₂، K₂₈، K₂₆، OR₄ و KH₄ دارای رنگ روشن بودند (جدول ۳).

آنالیز ملکولی با نشانگرهای ISSR

در این پژوهش از ده آغازگر ISSR جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ برتر گردوهای ایران در کلکسیون شاهرود استفاده شد. بطور کلی ۱۱۲ باند از واکنش PCR حاصل شد که ۱۰۲ باند چند شکلی را نشان دادند که تقریباً ۹۱ درصد پلی مورفیسم مشاهده شد (جدول ۴) که این نتایج حاکی از کارایی مناسب نشانگر و تنوع موجود بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. پلی جینی و همکاران (۲۱) در بررسی ۴۸ واریته گردو با هشت آغازگر ISSR، ۵۴ باند مشاهده کردند که تنها ۳۱ عدد از باندها (۵۷/۴ درصد) چند شکلی را نشان دادند. بررسی تنوع ژرم پلاسم و روابط ژنتیکی در میان ارقام گردو و ارقام محلی یونان با آغازگر ISSR نشان داد که ۸۲/۸ درصد چند شکلی توسط این نشانگرها ایجاد می‌شود (۶). همچنین لی و همکاران (۱۶) با استفاده از ۱۲ آغازگر ISSR روابط بین ۱۰۴ ژنوتیپ گردو را بررسی کردند که ۴۸۱ باند از مجموع ۴۸۵ باند تکثیر شده پلی مورفیک بودند و درصد چند شکلی ۹۱/۱ درصد محاسبه شد.

- 1- Average band informativeness
- 2- Resolving power
- 3- Principal Coordinates Analysis

جدول ۳- خصوصیات مهم میوه ۲۱ ژنوتیپ برتر گردو انتخابی در شرایط آب و هوایی شاهرود
Table 3- Pomological properties of 21 superior walnut genotypes in Shahrood climate, Iran

ژنوتیپ‌ها Genotype code	طول میوه Nut length (cm)	عرض میوه Nut diameter (cm)	وزن میوه Nut weight (g)	شکل میوه Fruit shape	وضعیت سطح پوست چوبی Shell surface	میزان چسبندگی پوست به مغز Ease of kernel removal	ضخامت پوست چوبی Shell thickness	وزن مغز Kernel weight (g)	رنگ مغز Kernel color	درصد مغز Kernel fill percentage
T ₉	3.5	3.4	13.9	گرد Round	صاف Smooth	آسان Easy	متوسط Medium	7.4	کهربایی Amber	53.2
K ₂₆	4.2	3.6	17.3	بیضوی Elliptic	متوسط Moderate	سخت Difficult	ضخیم Thick	8.6	روشن Light	49.7
K ₂₈	4	3.6	15.8	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	نازک Thin	8.3	روشن Light	52.5
T ₁₂	3.5	3.4	13.9	گرد Round	صاف Smooth	متوسط Medium	نازک Thin	7.9	روشن Light	62.7
OR ₂₃	4.1	3.8	17.5	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	نازک Thin	10.3	روشن Light	58.8
SH ₁	3.7	3.6	13.6	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	آسان Easy	نازک Thin	7.5	خیلی روشن Extra light	55
T ₁	3.8	3.4	14.2	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	آسان Easy	ضخیم Thick	7.3	کهربایی Amber	48.3
OR ₂₆	3.8	3.1	16.8	بیضوی Elliptic	متوسط Moderate	متوسط Medium	ضخیم Thick	7.6	روشن Light	45.4
OR ₄	3.7	3.2	14	مستطیل کوتاه Short trapezoid	متوسط Moderate	متوسط Medium	ضخیم Thick	6.3	روشن Light	45
KH ₃₄	3.4	3	13.3	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	متوسط Medium	6.4	تیره Amber	48
KH ₃₁	4.3	3.9	15.7	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	نازک Thin	5.3	خیلی روشن Extra light	43.4
KH ₄	3.6	3.2	15.8	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	متوسط Medium	متوسط Medium	7.6	روشن Light	48
OR ₃₇	3.3	3.1	12.5	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	متوسط Medium	نازک Thin	7.3	خیلی روشن Extra light	58.4
R ₂ G ₃	3.8	3.6	13.7	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	متوسط Medium	متوسط Medium	6.5	کهربایی روشن Light Amber	50
R ₂ G ₅	3.5	3.4	13	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	آسان Easy	نازک Thin	6.8	کهربایی Amber	52
R ₂ G ₈	4	3.9	17	گرد Round	کمی چروکیده Low shrivel	آسان Easy	ضخیم Thick	8.5	کهربایی روشن Light Amber	50
R ₂ G ₄	3.6	3.5	14.2	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	نازک Thin	6.9	کهربایی Amber	49
R ₁ G ₆	3.6	3.4	12.1	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	آسان Easy	متوسط Medium	5.8	کهربایی Amber	47.9
R ₁ G ₇	3.1	3.4	14.2	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	آسان Easy	متوسط Medium	6.9	کهربایی روشن Light Amber	48.6
R ₁ G ₂	4.1	3.9	12.6	تخم مرغی Ovate	صاف Smooth	متوسط Medium	متوسط Medium	7.9	کهربایی روشن Light amber	62.7
R ₂ G ₁	3.5	3.3	13.4	تخم مرغی Ovate	متوسط Moderate	آسان Easy	نازک Thin	6.9	کهربایی روشن Light amber	46
Min کمترین	3.1	3	12.1	-	-	-	-	5.30	-	43.40
Max بیشترین	4.3	3.9	17.5	-	-	-	-	10.30	-	62.70
Mean میانگین	3.72	3.46	14.34	-	-	-	-	7.33	-	51.17
STDEV	0.31	0.27	1.69	-	-	-	-	1.08	-	5.53
انحراف معیار Variance	0.097	0.071	2.87	-	-	-	-	1.17	-	30.57

دوگان و همکاران (۷) نیز ۶۹/۱ درصد پلی مورفیک با ۲۵ آغازگر ISSR در ۵۹ ژنوتیپ گردو ترکیه و ارقام بین المللی آن، مشاهده کردند. درصد چند شکلی و میزان باندهای تکثیر شده در آغازگرهای ISSR بستگی به تنوع و تعداد ژنوتیپ های مورد بررسی دارد. علاوه بر این آغازگرهای مورد استفاده از نوع دجنراتیو^۱ بودند که خود باعث ایجاد حالت های مختلف و افزایش باندهای تکثیری از مناطق مختلف ژنوم می شود. میزان چندشکلی گزارش شده با آغازگرهای ISSR بین مطالعات مختلف، متفاوت است. میزان چندشکلی خود برابندی است از فاکتورهای همچون مواد ژنتیکی، آغازگرها و روش جداسازی باندها است و در واقع این بخش به قدرت جداسازی ژل بستگی دارد (۶). در این مطالعه برای تفکیک باندها از ژل آگاروز متافور با دمای ذوب ۷۰ درجه استفاده شد. این نوع آگاروز قادر است که باندهای با اختلاف ۴ جفت باز را از یکدیگر تفکیک کند و در نتیجه دقت و تعداد باندها افزایش می یابد. کمترین تعداد باندهای تکثیر شده در آغازگرهای UBC.853، UBC.884، UBC.850 و UBC.886 با تعداد نه باند و بیشترین تعداد باند تکثیری در آغازگرهای UBC826 و UBC.888 با ۱۴ باند مشاهده شد (جدول ۴). آغازگر UBC826 با ۱۴ باند بیشترین تعداد باند چند شکل را تولید کرد (شکل ۱). بیشترین

میزان باندهای حاوی اطلاعات (AvIb) در آغازگرهای UBC887 و UBC886 به میزان ۰/۶۲ مشاهده شد. آغازگر UBC884 با میزان ۰/۱۴ کمترین باندهای حاوی اطلاعات را تولید کرد. بیشترین قدرت تفکیک کنندگی به میزان ۷/۷۱ در آغازگر UBC826 و پس از آن در آغازگر UBC.887 مشاهده شد. قدرت تفکیک شاخصی است که نشان می دهد هر آغازگر چه تعداد از ژنوتیپ ها را می تواند شناسایی کند با این حساب کمترین میزان Rp با میزان ۱/۲۴ در آغازگر UBC.884 مشاهده شد. در تحقیقی که عطار و همکاران (۳) نیز بر روی گردو انجام دادند بیشترین RP با مقدار ۳/۸۹ در آغازگر UBC.830 و کمترین مقدار (۰/۲۲) گزارش شده در آغازگر UBC.834 بود. طبق نتایج حاصل از تحقیق کریستوپولوس و همکاران (۶) بر ژرم پلاسماهای گردو در یونان، بالاترین و کمترین مقدار RP به ترتیب در آغازگر UBC.814 (با مقدار ۸/۱۸) و UBC.830 (با مقدار ۰/۸۶) مشاهده شد. مقدار RP نشانگر AFLP در ژنوتیپ های گردو با میانگین ۱۶/۲ گزارش شده است (۳). در حالی که میانگین RP با آغازگرهای ISSR ۴/۵۲ گزارش شده است (۲۳) که نسبت به میانگین مطالعه حاضر کمتر است.

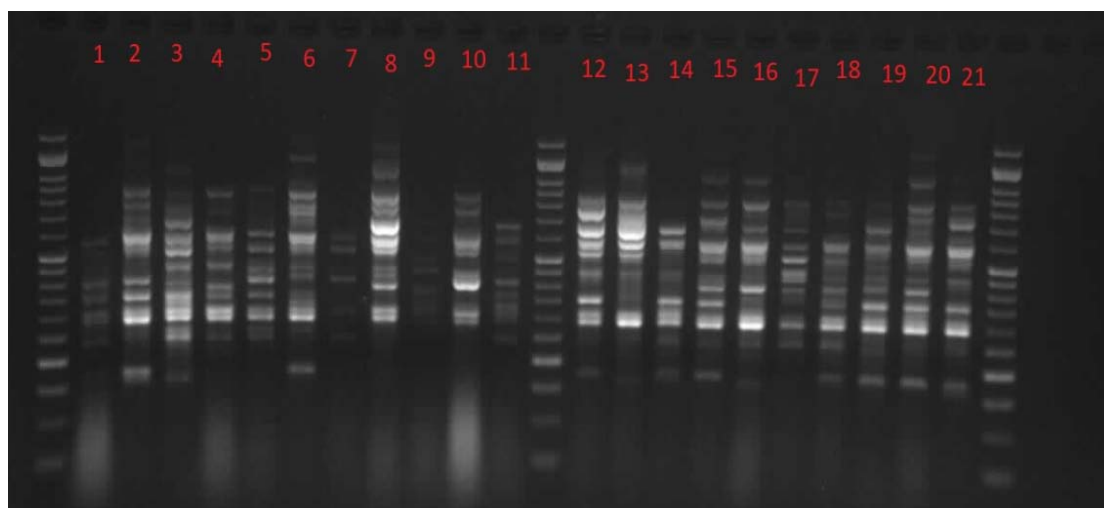
جدول ۴- چندشکلی ایجاد شده ناشی از آغازگرهای ISSR در ژنوتیپ های برتر گردو در ایران
Table 4- Polymorphism exhibited by ISSR primers in superior walnut genotype in Iran

آغازگر Primer	توالی Primer sequence	دامنه باند Bond range (bp)	تعداد باند Bond Number	تعداد باند چند شکل Polymorphism bond	چندشکلی (%) Polymorphism %	AVIb	Rb
UBC.853	VDG (CT)7	200-1000	9	7	78	0.32	2.86
UBC.884	HBH (AG)7	200-700	9	7	78	0.14	1.24
S14	(AG)8 T	250-1200	12	10	83	0.51	6.10
UBC.888	DBD(CA)7	150-1200	14	11	79	0.47	6.57
UBC.887	DVD(TC)7	250-1200	12	12	100	0.62	7.43
UBC.840	(GA)8YT	150-1500	11	10	91	0.41	4.48
UBC.890	VHV(GT)7	150-1000	13	13	100	0.51	6.57
UBC.826	(AC)8C	150-1200	14	14	100	0.55	7.71
UBC.850	7YC(GT)	150-900	9	9	100	0.41	3.71
UBC.886	VDV(CT)7	150-800	9	9	100	0.62	5.62
total	-	-	112	102	-	-	-

Y = (C,T), R = (A,G), B = (C,G,T), D = (A,G,T), V(A, C, G), H(A, T, C)

AvIb: Average band informative , میانگین باندهای حاوی اطلاعات قدرت تفکیک کنندگی Rb: resolving power

1- degenerate primer



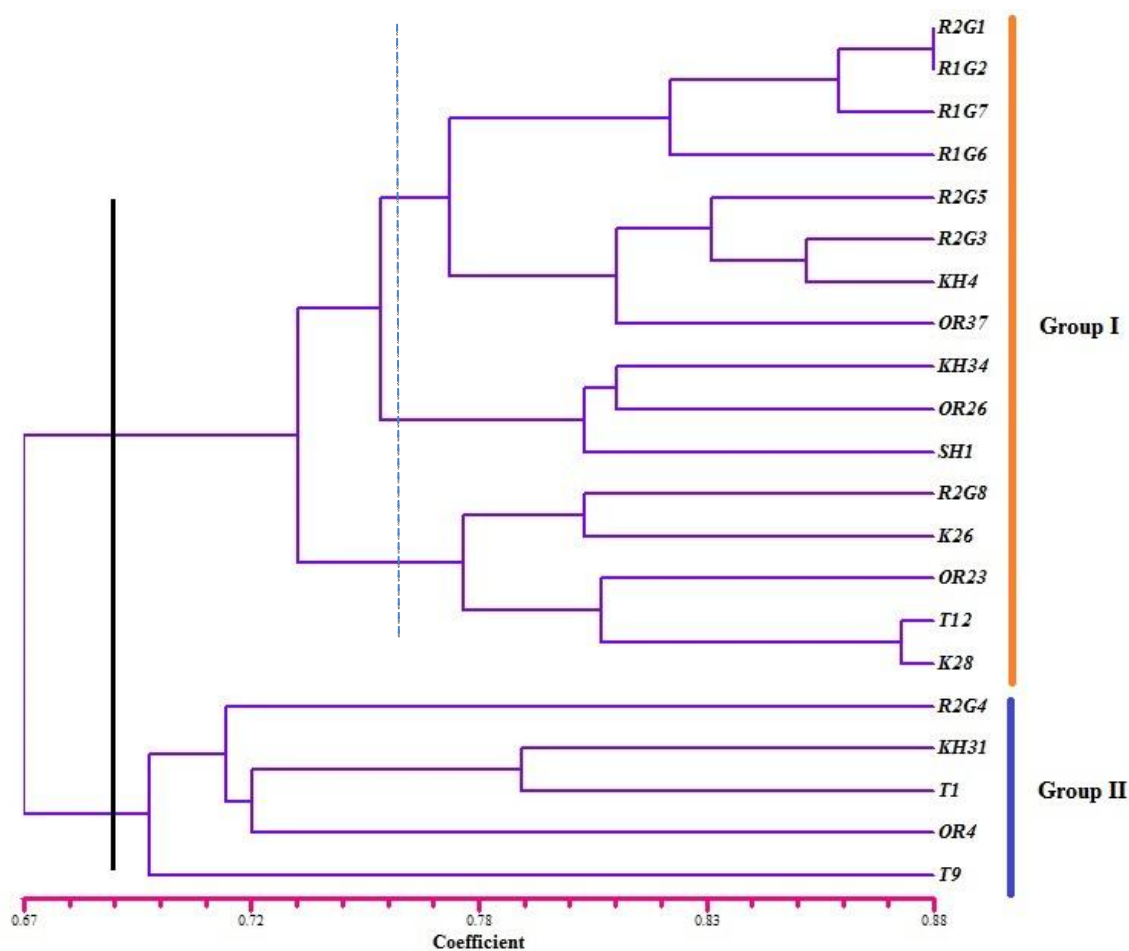
شکل ۱- الگوی بانندی DNA تکثیر شده از ۲۱ ژنوتیپ برتر گردو با آغازگر UBC.826 بروی ژل آگاروز متافور
Figure 1- DNA banding pattern of 21 superior walnut genotypes reproduced by UBC.826 primer on metaphor agarose gel

تنوع ژنتیکی و میزان خویشاندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های ISSR

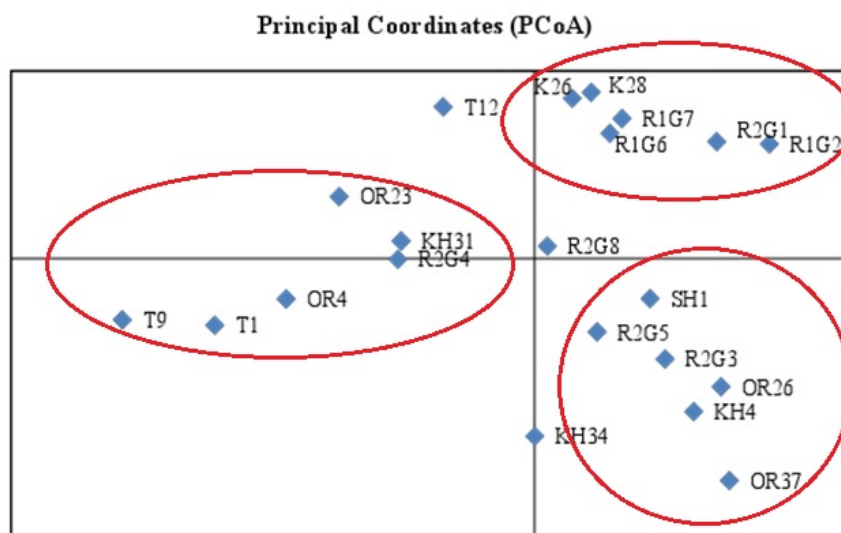
نتایج ماتریس تشابه بین ۲۱ ژنوتیپ گردو بر اساس ۱۰۲ باند تکثیری از آغازگرهای ISSR نشان داد که ضریب تشابه ژنوتیپ‌ها بین ۰/۵۱ تا ۰/۸۸ متغیر می‌باشد (جدول ماتریس تشابه آورده نشده است). بیشترین تشابه (۸۸ درصد) بین ژنوتیپ‌های R_1G_2 با R_1G_2 و همچنین ژنوتیپ‌های R_1G_7 با R_1G_2 وجود داشت که هر دو ژنوتیپ از منطقه شاهرود جمع‌آوری شده بودند. کمترین ضریب تشابه به میزان ۰/۵۱ بین ژنوتیپ‌های T_9 و OR_{37} مشاهده شد. در کل فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه پایین بود. عطار و همکاران (۳) با مطالعه گردوی ایرانی در باغات مشهد دریافتند که تنوع بسیار پایینی بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد و تنوع کم را به دخالت‌های انسانی نسبت دادند. فورناری و همکاران (۱۰) با بررسی ژنوتیپ‌های گردو توسط آلوزایم‌ها در مناطق آسیا و اروپا دریافتند خود گرده‌افشانی در گردو باعث کاهش تنوع شده است. آغازگرهای ISSR در طیف وسیعی از مطالعات از جمله بررسی تنوع ژنتیکی، فیلوژنی، نقشه‌برداری ژنتیکی و زیست‌شناسی تکاملی مفید هستند (۲۵) و در بسیاری از گونه‌های درختی مانند گردو (۲۲) زیتون (۲۹) انجیر (۲۷) و آلو (۱۵) به صورت عملی استفاده شده‌اند. در مطالعه حاضر آغازگرهای ISSR توانستند میزان چندشکلی بالایی را نشان دهند که این مهم حاکی از مناسب بودن این نشانگر در بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها است.

دندروگرام تنوع ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ در شکل ۲ ارائه شده است. کلاستر ژنوتیپ‌ها را در ضریب تشابه حدود ۰/۶۹ می‌توان به دو گروه اصلی تقسیم‌بندی نمود. همچنین گروه اول در ضریب تشابه ۰/۷۷

می‌توان به سه زیر گروه تقسیم‌بندی نمود. زیر گروه اول تماماً (بغیر از ژنوتیپ‌های KH_4 و OR_{37}) مربوط به ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از منطقه شاهرود هستند که بیشترین تشابه ژنتیکی هم بین برخی از این ژنوتیپ‌ها (R_1G_2 با R_2G_1 و R_1G_7) مشاهده شد. زیر گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های KH_{34} ، OR_{26} و SH_1 بود و ژنوتیپ‌های R_2G_8 ، K_{26} ، OR_{23} و T_{12} در زیر گروه سوم قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های R_2G_4 ، KH_{31} ، T_1 و OR_4 که دارای فاصله ژنتیکی زیاد بودند در گروه دوم قرار گرفتند. ژنوتیپ T_9 دارای فاصله ژنتیکی بیشتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بود (شکل ۲). نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCOA) نشان داد که ژنوتیپ‌ها بر حسب توزیع بر مبنای دو مؤلفه اول در سه گروه قرار گرفته‌اند در گروه اول ژنوتیپ‌های K_{26} ، K_{28} ، R_1G_2 ، R_1G_6 ، R_1G_7 و R_2G_1 قرار گرفتند که اکثر ژنوتیپ‌های برتر شاهرود در این گروه واقع شدند. در دندروگرام نیز همه این ژنوتیپ‌ها در گروه اول قرار گرفته بودند (شکل ۳). در گروه دوم تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ژنوتیپ‌های OR_{37} ، KH_{34} ، KH_4 ، OR_{26} ، R_2G_3 ، R_2G_5 و SH_1 قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های OR_{23} ، KH_{31} ، R_2G_4 ، OR_4 و T_1 در گروه سوم تقسیم‌بندی شدند. این ژنوتیپ‌ها بجز OR_{23} در گروه دوم تجزیه کلاستر بودند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تا حدود زیادی نتایج تجزیه کلاستر را تأیید کرد. سه مؤلفه اول به ترتیب ۱۸/۵۵، ۲۴/۱۰ و ۹/۱۹ درصد از تغییرات را توجیه کردند که در مجموع این سه مؤلفه ۳۷/۹۸ درصد تغییرات را پوشش دادند که این نشان‌دهنده کارایی مناسب آغازگرهای ISSR انتخابی است.



شکل ۲- دندروگرام تشابه ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ برتر گردو با استفاده از داده‌های نشانگر ISSR
Figure 2- UPGMA dendrogram of 21 superior walnut genotypes based on ISSR data.



شکل ۳- تجزیه به محورها اصلی (PCoA) حاصل از ماتریکس تشابه ژنتیکی ۲۱ ژنوتیپ برتر گردو
Figure 3- Principal Coordinates Analysis (PCoA) via similarity matrix of 21 walnut genotypes

نتیجه‌گیری

بررسی‌های مورفولوژیکی نشان داد ژنوتیپ‌های انتخابی گردو به لحاظ خصوصیات برتر مغز و خشک میوه از کیفیت بالایی برخوردارند و ژنوتیپ‌های T₁₂ و OR₂₃ دارای بالاترین درصد و وزن مغز در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشند. فن‌آوری نشانگر ISSR یک روش ارزان آسان و رضایت‌بخش برای ارزیابی روابط ژنتیکی و تنوع ژنتیکی در میان ارقام گردو است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که این نشانگر چندشکلی مناسب جهت تفکیک ژنوتیپ‌های گردو داراست. ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از شاهرود دارای تنوع ژنتیکی کمتری بین خود هستند و احتمالاً مقدار تنوع مشاهده شده مرتبط به دخالت‌های انسانی است. ژنوتیپ‌های تویسرکان و ارومیه دارای تنوع

منابع

و فاصله ژنتیکی بیشتری هستند لذا با توجه خصوصیات برتر میوه در این ژنوتیپ‌ها به‌ویژه ژنوتیپ‌های T₁₂ و OR₂₃ می‌توانند به عنوان والدین برتر جهت تلاقی با ژنوتیپ‌های انتخابی از منطقه شاهرود استفاده شوند. نتایج گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای مولکولی با گروه‌بندی حاصل از صفات کیفی تا حدود زیادی مطابقت داشت که حاکی از کارایی مناسب نشانگر ISSR است. در کل استفاده توأم از صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی جهت بررسی تنوع ژنتیکی در گردو پیشنهاد می‌گردد و با توجه به تنوع زیاد گردو در ایران، پیشنهاد می‌گردد یک بانک ژرم پلاسمی از این گیاه تهیه گردد و بصورت گسترده مورد بررسی قرار گیرد تا امکان معرفی و اصلاح واریته‌های مناسب فراهم گردد.

- 1- Aradhya M., Woeste K., and Velasco D. 2010. Genetic diversity, structure and differentiation in cultivated walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae*, 861: 127-132.
- 2- Arzani K., Mansouri Ardakan H., and Vezvaei A. 2008. Morphological variation among Persian walnut (*Juglans regia* L.) genotype from central Iran. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36: 159-168.
- 3- Attar S.H., Davarinezhad G.R., Samiee L., and Moghaddam M. 2017. Study of genetic diversity of some Persian walnut genotypes in Mashhad commercial orchards by using ISSR marker. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 31(3): 611-620. (In Persian with English abstract)
- 4- Bayazit S., Kaza K., Golbitti S., Cevik V., Ayanoglu H., and Ergul A. 2007. AFLP analysis of genetic diversity in low chill requiring walnut (*Juglans regia* L.) genotyping from Hatay, Turkey. *Scientia Horticulturae*, 111: 394-398.
- 5- Browicz K. 1976. Juglandaceae. In: Rechinger, K.H. (Ed.), *Flora Iranica*. Akademische Druck-u Verlagsanstalt, 121: 1-5
- 6- Christopoulos M.V., Rouskas D., Tsantili E., and Bebeli P.J. 2010. Germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) cultivars and Greek local selections revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) markers. *Scientia Horticulturae*, 125(4): 584-592.
- 7- Dogan Y., Kafkas S., Sütyemez M., Akka Y., and Türemis N. 2014. Assessment and characterization of genetic relationships of walnut (*Juglans regia* L.) genotypes by three types of molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 168: 81-87.
- 8- Ebrahimi A., Fatahi R., and Zamani Z. 2011. Analysis of genetic diversity among some Persian walnut genotypes (*Juglans regia* L.) using morphological traits and SSRs markers. *Scientia Horticulturae*, 130: 146-151.
- 9- FAO. 2016. FAO statistical yearbook. Agricultural production, Food and Agriculture Organization of the United Nations (<http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx>).
- 10- Fornari B., Canata F., Spada M., and Malvolti M.E. 1999. Aloszyme analysis of genetic diversity differentiation in European and Asiatic walnut (*Juglans regia* L.) populations. *Forest Genetics*, 6(9): 115-127.
- 11- Gerald D.S., Woeste K., Aradhya M.K., Koehmstedt A., Simon C., Potter D., Leslie C.A., and McGranahan G.H. 2005. Characterization of 14 microsatellite markers for genetic analysis and cultivar identification of walnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130: 348-354.
- 12- Jaccard P. 1908. Nouvelle reserches sur la distribution florale. *Bulletin de la societe des sciences naturelles*, 44: 223-227.
- 13- Kafkas S., Ozkan H., and Sutyemez M. 2005. DNA polymorphism and assessment of genetic relationships in walnut genotypes based on AFLP and SAMPL markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130: 585-590.
- 14- Li H., and Chen G. 2008. Genetic relationship among species in the genus *Sonneratia* in China as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal Biochemical Systematic and Ecology*, 36: 392-398.
- 15- Liu W., Liu D., Zhang A., Feng C., Yang J., Yoon J., and Li S. 2007. Genetic diversity and phylogenetic relationships among plum germplasm resources in China assessed with Inter-simple Sequence Repeat markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132: 619-628.
- 16- McGranahan G.P., and Leslie C. 1990. Walnuts (*Juglans*). *Acta Horticulturae*, 290: 907-951.
- 17- Niceses F.P., Hormaza J.I., and McGranahan G.H. 1998. Molecular characterization and genetic relatedness among walnut (*Juglans regia* L.) genotypes based on RAPD markers. *Euphytica*, 101: 199-206.

- 18- Oliveira C.M., Mota M., Monte-Corvo L., Goulao L., and Silva D.M. 1999. Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 79: 163–174.
- 19- Peakall R., and Smouse P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.
- 20- Pollegioni P., Bartoli S., Cannata F., and Malvoti M.E. 2003. Genetic differentiation of four Italian walnut varieties by inter simple sequence repeat. *Journal of Genetics and Breeding*, 57(3): 231–240.
- 21- Pollegioni P., Major A., Bartoli S., Ducci F., Proietti R., and Malvoti M.E. 2005. Application of microsatellite and dominant molecular markers for the discrimination of species and interspecific hybrids in genus *Juglans*. *Acta Horticulturae*, 705: 191-197.
- 22- Potter D., Gao F., Aiello G., Leslie C., and McGranahan G.H. 2002. Intersimple sequence repeat markers for fingerprinting and determining genetic relationships of walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 75-81.
- 23- Prevost A., and Wilkinson M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting. *Theoretical Applied Genetics*, 98: 107–112.
- 24- Rahimipناه M., Hamed M., and Mirzapour M. 2010. Antioxidant activity phenolic contents of Persian walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract. *American Journal of Food Science and Technology*, 1: 105-111.
- 25- Reddy M.P., Sarla N., and Siddiq E.A. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128: 9–17.
- 26- Rohlf F.J. 1998. NTSYS-p.c. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (Version 2.0). Exeter Software Publishers Ltd., Setauket.
- 27- Sahli-Hannachi A., Chatti K., Mars M., Marrakchi M., and Trifi M. 2005. Comparative analysis of diversity in two Tunisian collections of fig cultivars based on random amplified polymorphic DNA and inter simple sequence repeats fingerprints. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52: 563–573.
- 28- Shamlu F., Rezaei M., Biabani A., and Khanahmadi A. 2015. Morphological Diversity among Walnut Genotypes of in Azadshar, Iran. *Journal of Horticulture Science*, 30(3): 469-479. (In Persian)
- 29- Terzopoulos P.J., Kolano B., Bebeli P.J., Kaltsikes P.J., and Metzidakis I. 2005. Identification of *Olea europaea* L. cultivars using inter-simple sequence repeat markers. *Scientia Horticulturae*, 105: 45–51.
- 30- Terzopoulos P.J., and Bebeli P.J. 2008. Genetic diversity analysis of Mediterranean faba bean (*Vicia faba* L.) using ISSR markers. *Field Crops Research*, 108: 39–44.
- 31- Tian L., xiang A., Li-Si Z., Hai Rong W., and Qing L. 2011. ISSR Analysis of Genetic Diversity among Seedling Walnut (*Juglans* spp.)Populations. *Journal of Plant Genetic Resources*, 12(4): 640-645.
- 32- Tsmouris G., Hatziantoniou S., and Demetzos C. 2002. Lipid analysis of Greek walnut oil (*Juglans regia* L.). *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57: 51- 56.
- 33- Vijayan K., Awasthi K., Sprivasava P., and Sarachandra B. 2006. Genetic Analysis of Indian Mulberry Varieties Through Molecular Markers. *Hereditas*, 141:8-14.
- 34- Woeste K., Burns R., Rhodes O., and Michler C. 2002. Thirty polymorphic nuclear microsatellite loci from black walnut. *Journal of Heredity*, 93: 58–60.
- 35- Yarilgac T., Koyuncu F., Koyuncu M.A., Kazankaya A., and Sen S.M. 2001. Some promising walnut selections (*Juglans regia* L.) *Acta Horticulturae*, 544: 93-96.



Genetic Diversity of Superior Walnut Genotypes Revealed by ISSR Markers in Shahrood, Iran

F. Davoodi¹ - M. Rezaei^{2*} - P. Heidari³ - H. Hokmabadi⁴

Received: 10-03-2018

Accepted: 29-09-2018

Introduction: Iran is known as the origin of Persian walnut in the world, and so the study of genetic diversity, identifying and introducing superior walnut genotypes from the main walnut production areas in Iran is very important. From the beginning of the year 2001, seeds of selected walnut genotypes from important walnut production area of Iran were collected and cultivated in a walnut collection in Semnan Research Center (Shahrood), Iran. From this collection, promising walnut genotypes were selected based on climate adaptability to Shahrood area and pomological characteristics. In this research, in addition to introducing fruit characters of these walnut selected genotypes, genetic diversity and their genotypes relationship in the genome level have been also investigated with the ISSR markers.

Materials and Methods: 40 selected genotypes of important walnut regions of Iran (Tuyserkan, Orumieh, Karaj and Khorasan province) were cultivated in a walnut collection at the Shahrood Research Center in 2001. From these seedlings, 21 genotypes were selected on the base of pomological characteristics and they were grafted onto Persian walnut seedlings. Pomological traits of the fruits of these selected genotypes including the average of nut weight, kernel weight, kernel percentage, shell attachment to the kernel, kernel color, shell thickness and nut size and shape were measured. DNA was extracted from young leaves of walnut genotype by CTAB method and its quality and quantity evaluated on the agarose gel as well as the Nano drop, and then genomic DNA was amplified with the 10 ISSR primers in PCR. The amplified bands were separated by Metaphor agarose gel and stained with Ethidium bromide. For each primer, the amplified band range, the total number of bands, the number of polymorphic bands, the polymorphic percentage, Average informative band (AvIb) and resolving power (Rp) was determined. UPGMA dendrogram based on Jaccard similarity matrix was the performance by Ntsys 2.0 software. Principle Coordinate analysis was performed based on the genetic distance matrix with GenAlex 6.2 software.

Results and Discussion: The mean of fruit and kernel weight in selected walnut genotypes were 14.34 and 7.33 g, respectively. The highest nut and kernel weight was found to be 17.5 and 10.3 g, respectively in OR23. The Kernel weight was more than kernel weight reported by Shamlu et al. (2015), Yarilgac et al. (2001) and Tasmuris et al. (2002) (9.40, 8.88 and 6.32 g). The average of kernel percentage in selected walnuts was 51.5%. The highest percentage of the kernel (62.7%) was observed in T12 genotype. from the ten ISSR primers in 21 walnut genotypes, 112 DNA fragments were amplified and 102 DNA bonds of them were polymorphic and they were used for genetic variation analysis. The highest number of amplified DNA bands was observed in UBC826 and UBC888 primers with 14 bands. The highest average band informative (AvIb), 0.62, was observed in UBC887 and UBC886 primers. The highest resolving power (Rp) was found to be 7.71 in UBC826 primer and then in UBC.887 primer. The Jaccard' similarity coefficient of genotypes varies from 0.51 to 0.88. The results showed that the genetic distance of selected genotypes of walnut is medium. The dendrogram analysis of 21 genotypes of walnuts was divided genotypes into two main groups and three subgroups in the first group, which greatly matched the results of the PCoA. The genotypes were collected from Shahrood were inserted on the first subgroup of GI in dendrogram analysis, except of KH4 and OR37 genotypes, and the highest genetic similarity was observed between some of these genotypes (R1G2 with R2G1 and R1G7). The second group includes

1 and 2- M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticulture, Shahrood University of Technology, Iran
(*- Corresponding Author Email: mhrezaei@shahroodut.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology, Iran

4- Assistant Professor, Semnan Agriculture and Natural Resources Research Center, Semnan Iran

genotypes KH34, OR26, and SH1. Subgroup 3 of the first group contains R2G8, K26, OR23, T12, and K28. The second group has high genetic distances including R2G4, KH31, T1, OR4, and T9.

Conclusion: The ISSR marker technology is an inexpensive, easy and satisfactory way to evaluate genetic relationships and genetic variation among walnut cultivars. The results of this research showed that these markers (ISSR) are suitable for study of variation in walnut genotypes. The genotypes collected from Shahrood had a lower genetic diversity, and the observed diversity is probably related to human interactions. The Tuyserkan and Urmia genotypes showed more genetic variation. The results of clustering based on molecular markers were largely matched with the grouping based on qualitative traits. The results showed that there is a moderate genetic distance between selected walnuts genotypes. The genotypes collected from Urmia and Tuyserkan regions have a higher genetic distance than other genotypes and which according to their superior characteristics, they can be used as parent along with selected walnut genotypes from the Shahrood area in a breeding program.

Keywords: Clustering, Genetic diversity, ISSR markers, Walnut genotypes



بررسی اثر آبیاری تنظیم شده بر ویژگی‌های رویشی، عملکرد و محتوای روغن و کارایی مصرف آب درختان زیتون رقم زرد^۱

رحمت اله غلامی^{۱*} - عیسی ارجی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۱۰

چکیده

به منظور بررسی اثرات کسر آبیاری تنظیم شده بر ویژگی‌های رویشی، عملکرد و محتوای روغن و کارایی مصرف آب و نیز تعیین مراحل حساس تجمع روغن زیتون در برابر تنش کسر آبیاری، پژوهشی در قالب آزمایش طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و پنج تیمار آبیاری طی دو سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در باغات زیتون منطقه جوانمیری واقع در غرب استان کرمانشاه بر روی درختان ۱۴ ساله رقم زرد انجام گردید. درختان زیتون به فاصله ۵×۵ متر کشت شده‌اند و هر واحد آزمایشی شامل سه درخت بود. پنج تیمار آبیاری شامل ۱- آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون در طول فصل (شاهد)، ۲- عدم آبیاری در طول مدت سخت شدن هسته و تأمین آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد در سایر مراحل رشد میوه، ۳- آبیاری فقط در سه مرحله قبل از گلدهی، در شروع سخت شدن هسته و یک هفته قبل از برداشت محصول به منظور تهیه روغن، ۴- آبیاری به میزان ۶۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون طی کل فصل و ۵- شرایط دیم، با سیستم آبیاری قطره‌ای اعمال گردید به منظور تعیین اثر کسر آبیاری تنظیم شده بر زیتون رقم زرد. خصوصیات رویشی مانند طول و قطر شاخه سال جاری و نیز خصوصیات زایشی مانند درصد روغن در ماده خشک و تر، عملکرد روغن و میوه در هکتار، درصد ماده خشک میوه و کارایی مصرف آب تحت رژیم‌های مختلف آبیاری ثبت گردید. نتایج نشان داد که صفات درصد روغن در ماده تر، عملکرد روغن و میوه در هکتار و نیز بهره‌وری مصرف آب تحت تأثیر رژیم آبیاری و اثر متقابل رژیم آبیاری در سال معنی‌دار بود. عدم آبیاری در طول مدت سخت شدن هسته باعث افزایش میزان عملکرد روغن و میوه در هکتار گردید. بهره‌وری مصرف آب در تولید روغن در تیمار آبیاری در سه مرحله رشدی میوه بالاتر از آبیاری کامل و دیگر تیمارها بود.

واژه‌های کلیدی: آبیاری، روغن، زیتون

مقدمه

زیتون (*Olea europaea* L.) درختی همیشه سبز و مقاوم به

خشکی است (۲). زیتون یکی از مهم‌ترین میوه‌های منطقه مدیترانه به شمار می‌آید و برای تهیه کنسرو و روغن در مناطقی با محدودیت منابع آبی کشت می‌شود (۳۲). به دلیل وجود شرایط مناسب برای پرورش زیتون و نیاز کشور به تولید روغن، این محصول از نظر اقتصادی اهمیت زیادی دارد (۱). با توجه به خطر جدی خشکی و کمبود آب، تأمین آب مورد نیاز درختان یکی از محدودیت‌های اصلی برای توسعه کشت زیتون است که در چند سال اخیر، استفاده از روش‌های مناسب در بهره‌برداری بهینه از منابع آبی مانند استفاده از ارقام مقاوم (۱)، تعیین زمان‌های بحرانی آبیاری (۱۴)، استفاده از مالچ (۴) و استفاده از تنظیم کننده‌های رشد کاهش دهنده تعرق (۱۱ و ۱۵) برای صرفه‌جویی در مصرف آب مورد توجه قرار گرفته است. در این بین، راهبرد کم آبیاری یک راه حل مناسب در باغبانی بوده تا کارایی مصرف آب را بهبود بخشد. در این روش آبیاری بر اساس حفظ وضعیت آبی داخل گیاه با توجه به حداکثر پتانسیل آب در مراحل

۱- این پژوهش قسمتی از نتایج پروژه تحقیقاتی بررسی اثرات کسر آبیاری تنظیم شده بر ویژگی‌های رویشی و زایشی درختان زیتون رقم زرد در استان کرمانشاه به شماره مصوب ۹۴۱۰۲-۳-۵۵-۲ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی می‌باشد.

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

(*- نویسنده مسئول: (Email: gholami.rahmat@yahoo.com)

۳- دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.71739

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در منطقه جوانمیری واقع در شهرستان سرپل‌ذهاب از اردیبهشت سال ۱۳۹۵ به مدت دو سال به صورت آزمایش بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. این منطقه دارای طول جغرافیائی ۴۵ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیائی ۳۴ درجه و ۳۵ دقیقه شمالی است که ارتفاع آن از سطح دریا ۱۲۱۵ متر می‌باشد. این پژوهش در اقلیمی با متوسط حداکثر دمای سالیانه ۴۶/۷ درجه سانتی‌گراد و متوسط دمای سالیانه ۲۲/۱ درجه سانتی‌گراد و نیز متوسط رطوبت سالیانه ۳۴ درصد، متوسط حداکثر رطوبت سالیانه ۴۷ درصد، متوسط حداقل رطوبت سالیانه ۲۱ درصد، به اجرا در آمد. خاک و آب محل آزمایش تجزیه شد. نتایج آزمایش نشان داد بافت خاک لومی شنی با pH ۷/۳۵ و آب دارای هدایت الکتریکی ۵۵۰ میلی‌موس بر سانتی‌متر و pH ۷/۲۲ بود.

این پژوهش در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و پنج رژیم آبیاری انجام شد. مواد آزمایشی این پژوهش درختان ۱۴ ساله زیتون زرد بودند. پنج تیمار آبیاری شامل ۱- آبیاری به میزان ۱۰۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون در طول فصل (شاهد)، ۲- عدم آبیاری در طول مدت سخت شدن هسته و ۱۰۰ درصد در سایر مراحل رشد میوه، ۳- آبیاری فقط در سه مرحله حساس قبل از گلدهی، در شروع سخت شدن هسته و یک هفته قبل از برداشت محصول به منظور تهیه روغن، ۴- آبیاری به میزان ۶۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون طی کل فصل و ۵- شرایط دیم (جدول ۱)، با سیستم آبیاری قطره‌ای اعمال گردید. درختان به فاصله ۵×۵ متر کشت شده بودند و هر واحد آزمایشی شامل سه درخت بود. به‌طوری‌که هر تیمار آزمایشی شامل نه درخت بود. با استفاده از داده‌های روزانه هواشناسی ایستگاه هواشناسی شهرستان ثلاث و با استفاده از معادله پنمن مانیت (نرم افزار ETo calculator)، تبخیر و تعرق بالقوه و نیاز آبی درختان از اوایل اردیبهشت ماه زمان توقف بارندگی تا بیستم شهریورماه زمان برداشت میوه جهت کنسرو محاسبه گردید (جدول ۲). مراحل فنولوژی گل و میوه زیتون زرد در جدول ۳ آورده شده است. آبیاری هر سه روز یکبار بر اساس روش فوق‌الذکر با اندازه‌گیری تبخیر و تعرق روزانه و حجم آب مورد نیاز با در نظر گرفتن ضرایب گیاهی زیتون (FAO, 2008) و به روش آبیاری قطره‌ای انجام گرفت.

پس از بدست آوردن حجم آب مورد نیاز درختان مورد آزمایش در پنج رژیم آبیاری پیش‌بینی شده مورد پژوهش قرار گرفتند. در روی هر ردیف نیز یک کنتور حجمی جهت برآورد حجم آب مورد استفاده درختان تعبیه شد. عملیات مراقبت و نگهداری از درختان بطور یکسان در همه تیمارها اعمال گردید.

ویژه‌ای از چرخه گیاه به‌ویژه زمانی که رشد میوه کم‌ترین حساسیت را به تنش خشکی دارد، انجام می‌شود (۱۰، ۱۹ و ۲۷).

روش کم آبیاری در شرایط محدودیت آب و با ایجاد دوره‌های کم آبیاری در مراحل فنولوژیکی انتخاب شده، می‌تواند منجر به کاهش میزان رشد رویشی، بهبود ویژگی‌های میوه و درآمد اقتصادی در مقایسه با حداکثر تولید بر اساس میزان تولید بر واحد آب مصرفی گردد (۳۲). اگرچه کاهش آبیاری منجر به کاهش رشد و عملکرد کل گیاه می‌گردد اما در مناطقی با محدودیت منابع آبی، کاهش آب مصرفی، کاهش رشد رویشی، ایجاد تاج مناسب و کاهش هزینه‌های مربوط به نگهداری باغ از مزایای کم آبیاری تنظیم شده می‌باشد (۹ و ۲۴). نتایج آزمایش برینگور و همکاران (۳) در درختان زیتون رقم آربکین، تحت تأثیر هفت تیمار آبیاری بر اساس درصد تبخیر و تعرق (E_T)، نشان داد که با افزایش میزان آب آبیاری طول شاخه، اندازه میوه و وزن میوه به‌طور خطی افزایش می‌یابد اما درصد روغن و روغن کل درخت با افزایش آبیاری رابطه خطی نداشته، به‌طوری‌که بیش ترین درصد روغن در درختان با تیمارهای آبیاری کامل نبود. موتیلو و همکاران (۲۳) با بررسی اثرات کم آبیاری در زمان رسیدن و برداشت زیتون رقم آربکین مشاهده کردند که کم آبیاری سبب افزایش درصد روغن و تغییر اسیدهای چرب موجود در روغن گردید. روزکارنس و همکاران (۲۸) در باغ‌های متراکم زیتون رقم آربکین مشاهده کردند که کم آبیاری رشد رویشی، قطر تنه درخت و رشد شاخساره را کاهش داد و رشد فشرده‌تر درختان را ایجاد نمود.

تاکنون پژوهش‌های بسیاری در مورد اثر تیمارهای خشکی و کم آبیاری بر رشد رویشی گیاهان زیتون به صورت گلدانی در مورد گیاهان یک تا چند ساله زیتون صورت گرفته است. لذا با توجه به کشت زیتون در شرایط آب و هوایی مختلف و نقاط مختلف کشور و تهدید خشکی و کم آبی ضروری است این موضوع روی درختان بارور در مناطق مختلف کشور مورد بررسی قرار گیرد. لذا تعیین مراحل غیر حساس رشدی میوه به کسر آبیاری تنظیم شده به ویژه در شرایط کشت تجاری، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از کم آبیاری تنظیم شده استراتژی‌های مناسب برای کاهش مصرف آب در درختان میوه است که کاربرد آن در مناطق خشک از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد (۹).

از آنجائی‌که به نظر می‌رسد در ایران پژوهش خاصی روی کم آبیاری درختان بالغ و بارده زیتون صورت نگرفته است از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی و مقایسه تیمارهای کم آبیاری تنظیم شده و آبیاری کم بر ویژگی‌های رشدی و زایشی زیتون در شرایط مزرعه صورت گرفته است.

جدول ۱- شرح تیمارهای آزمایشی
Table 1- Description of experimental treatments

تیمار Treatment	شرح تیمار Description of treatment
T ₁	۱۰۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون در طول فصل رشد (شاهد) Full irrigation (control)
T ₂	قطع آبیاری در طول مدت سخت شدن هسته و ۱۰۰ درصد در سایر مراحل رشد میوه Regulated deficit irrigation (100% of full irrigation during growing season no irrigation during pit hardening)
T ₃	آبیاری در سه مرحله قبل از گلدهی، در شروع سخت شدن هسته و یک هفته قبل از برداشت محصول Irrigation in Three stages (before flowering, pit hardening and before Harvesting)
T ₄	آبیاری به میزان ۶۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون 60% of full irrigation (continuous deficit irrigation)
T ₅	شرایط دیم No irrigation (Rainfed)

جدول ۲- برآورد حجم آب آبیاری مورد نیاز بر اساس تبخیر و تعرق در سال ۹۵ و ۹۶
Table 2- Estimated irrigation volume based on crop evapotranspiration in 2016 and 2017

ماه Month	سال Year	تبخیر و تعرق Evapotranspiration (mm)	نیاز آبی ماهیانه Month irrigation requirement (Liter/tree)	نیاز آبی ماهیانه Month irrigation requirement (M ³ /ha)
اردیبهشت	2016	154.90	1124.09	449.64
May	2017	194.00	1791.07	716.43
خرداد	2016	211.50	2740.31	1096.12
June	2017	244.30	3165.50	1266.20
تیر	2016	256.30	3491.02	1396.41
July	2017	284.80	3879.21	1551.68
مرداد	2016	245.90	3349.36	1339.74
August	2017	297.40	4050.84	1620.34
شهریور	2016	188.10	2562.08	1024.83
September	2017	268.40	3650.28	1460.11
مهر	2016	118.40	1557.3	622.92
October	2017	158.00	2152.09	860.83
کل	2016	1175.10	14823.90	5929.66
total	2017	1446.90	18688.99	7475.59

جدول ۳- مراحل فنولوژی گل و میوه زیتون رقم 'زرد' در سال ۹۵ و ۹۶
Table 3- Flowering and fruit phenological stages of olive cv. 'Zard' in 2016 and 2017

تاریخ برداشت محصول Time of harvesting	طول مدت سخت شدن هسته Time of pit Hardening (days)	تاریخ سخت شدن کامل هسته End pit hardening	تاریخ شروع سخت شدن هسته Start pit hardening	تاریخ شروع گلدهی Start of flowering
1.6.	30	30.3.	3.3.	2.2.
23.8.	30	20.6.	24.5.	22.4.

صفات رویشی (I.O.O.C, 2002a) و زایشی (I.O.O.C, 2002b) با استفاده از شاخص‌های ارزیابی و تمایز زیتون اندازه‌گیری شد. به منظور تعیین میزان گوشت با استفاده از چاقو گوشت از هسته جدا گردید و پس از توزین برای محاسبه وزن خشک و درصد ماده خشک میوه‌ها، نمونه‌های گوشت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا ثابت شدن وزن خشک آنها نگه داشته شدند. درصد روغن با دستگاه سوکسله و با استفاده از حلال دی اتیل اتر استخراج و اندازه‌گیری شد (I.O.O.C, 2002b). میوه‌های برداشت شده از هر درخت برای تعیین مقدار عملکرد میوه به منظور تعیین عملکرد روغن در هکتار استفاده شد.

تجزیه آماری داده‌ها به روش مدل خطی عمومی (GLM) به کمک نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱ کارولینای شمالی) و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

رشد و قطر شاخه سال جاری: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات رشد و قطر شاخه سال جاری در بین رژیم‌های آبیاری در سطح ۱٪ معنی‌دار بودند. رشد و قطر شاخه سال جاری تحت تاثیر اثرات متقابل رژیم آبیاری در سال معنی‌دار نبود (جدول ۴ و ۷). تاثیر سال بر قطر شاخه سال جاری در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴ و ۶).

نتایج مقایسه میانگین صفت رشد و قطر شاخه نشان داد بین تیمارهای آبیاری از نظر صفات رویشی اندازه‌گیری شده تفاوت معنی

داری وجود داشت به‌طوری‌که تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد و بعد از آن تیمار کم آبیاری T₂ باعث افزایش رشد و قطر شاخه سال جاری و در مقابل شرایط دیم باعث کاهش رشد و قطر شاخه سال جاری گردید (جدول ۵).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از جداول مربوطه صفات رویشی اندازه‌گیری شده با میزان آب آبیاری ارتباط داشته و این افزایش در میزان رشد اندام‌های مختلف به علت آب کافی جهت رشد و تقسیم سلول‌ها می‌باشد. به عبارتی دیگر گیاهانی که تحت تنش آبی قرار می‌گیرند به علت کاهش تورژسانس سلولی و عدم وجود آب کافی جهت رشد و تقسیم سلول‌ها، میزان رشد و نمو اندام‌های مختلف در آنها کاهش می‌یابد (۲۵). نتایج پرزلوپز و همکاران (۲۶) نشان داد که تاثیر کم آبیاری (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد نیاز آبی) در درختان زیتون رقم کورنیکابرا باعث کاهش میزان رشد بر اساس میزان شدت کم آبیاری گردید نتایج حاصله در این پژوهش حاکی از تاثیر شدت کم آبیاری بر کاهش رشد داشت. در تحقیقی که مزگانی و همکاران (۲۲) به منظور مطالعه واکنش برخی ارقام زیتون در شرایط آب و هوایی تونس تحت تاثیر تنش خشکی شامل مقادیر ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ درصد تبخیر و تعرق، صورت گرفت پارامترهای رشدی مانند طول و قطر شاخه تعیین گردید. نتایج نشان داد رژیم‌های آبیاری به طور قابل توجهی روی قطر و طول شاخه اثر گذاشت. نتایج پژوهش حاضر با نتایج روزکارنس و همکاران (۲۸) در مورد کاهش طول و قطر شاخه در اثر تنش آبیاری در درختان زیتون مطابقت دارد.

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات رشد و قطر شاخه سال جاری، درصد روغن در ماده خشک و درصد روغن در ماده تر میوه

زیتون رقم 'زرد' تحت تاثیر پنج رژیم آبیاری در دو سال

Table 4- Variance analysis of current season growth, current season diameter, dry and fresh oil content of fruit olive cv. 'Zard' affected by five irrigation regimes in two years

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	رشد سال جاری Current season growth	قطر سال جاری Current season diameter	روغن در ماده خشک Dry oil content	روغن در ماده تر Fresh oil content
سال Year	1	0.61 ^{ns}	0.004 [*]	3.01 ^{ns}	20.37 ^{**}
بلوک×سال Block×Year	4	2.96 [*]	0.0002 ^{ns}	0.73 ^{ns}	4.92 [*]
رژیم آبیاری Irrigation regime	4	104.28 ^{**}	0.092 ^{**}	75.70 ^{**}	63.68 ^{**}
رژیم آبیاری×سال Irrigation regime×Year	4	0.72 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.80 ^{ns}	5.37 [*]
خطا Error	16	0.64	0.001	0.93	1.61
ضریب تغییرات C.V. (%)		5.59	8.96	2.71	8.63

ns، * و ** به ترتیب بی‌معنی، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

ns, *, **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر رژیم‌های آبیاری بر رشد و قطر شاخه سال جاری، درصد روغن در ماده خشک و درصد روغن در ماده تر میوه زیتون رقم 'زرد' طی دو سال تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 5- Mean comparison of different irrigation regimes effects on current season growth, current season diameter, dry and fresh oil content of fruit olive cv. 'Zard' in two years affected by five irrigation regimes

رژیم آبیاری Irrigation regime	رشد سال جاری Current season growth (cm)	قطر سال جاری Current season diameter (cm)	روغن در ماده خشک Dry oil content (%)	روغن در ماده تر Fresh oil content (%)
T ₁	18.25 a	0.48 a	37.66 b	11.43 b
T ₂	17.31 a	0.36 b	39.58 a	12.94 b
T ₃	12.19 c	0.21 d	34.16 c	17.46 a
T ₄	15.92b	0.24 c	36.33 b	12.76 b
T ₅	8.15 d	0.17 e	30.33 d	18.85 a

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

Means with the same letters in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر رژیم‌های آبیاری بر رشد و قطر شاخه سال جاری، درصد روغن در ماده خشک و درصد روغن در ماده تر میوه زیتون رقم 'زرد' طی دو سال تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 6- Mean comparison of different irrigation regimes effects on current season growth, current season diameter, dry and fresh oil content of fruit olive cv. 'Zard' in two years affected by five irrigation regimes

رژیم آبیاری irrigation regime	سال Year	رشد سال جاری Current season growth (cm)	قطر سال جاری Current season diameter (cm)	روغن در ماده خشک Dry oil content (%)	روغن در ماده تر Fresh oil content (%)
T ₁	2016	18.51 a	0.49 a	38.33 ab	11.46 b
	2017	18.00 a	0.47 a	37.00 b	11.39 b
T ₂	2016	17.68 a	0.37 b	39.66 a	13.19b
	2017	16.93ab	0.34b	39.50 a	12.70 b
T ₃	2016	11.72 c	0.22 cd	34.83 c	19.65 a
	2017	12.66c	0.21cd	33.50 c	15.27 a
T ₄	2016	16.25 b	0.26 c	36.17bc	12.97b
	2017	15.60b	0.23 c	36.50 b	12.55 b
T ₅	2016	8.38 d	0.19 d	30.66d	20.30 a
	2017	7.93d	0.17 d	30.00 d	17.41 a

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

Means with the same letters in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

عملکرد و محتوای روغن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات عملکرد روغن و محتوای روغن در بین رژیم‌های آبیاری در سطح ۱٪ معنی‌دار بودند. درصد روغن در ماده تر تحت تأثیر اثرات متقابل رژیم آبیاری در سال در سطح ۵٪ معنی‌دار بود در حالی که عملکرد میوه تحت تأثیر اثرات متقابل رژیم آبیاری در سال در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جداول ۴ و ۷). تأثیر سال بر درصد روغن در ماده تر در سطح آماری یک درصد، اثر سال بر درصد ماده خشک و عملکرد میوه در هکتار در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بودند (جداول ۴ و ۷).

نتایج مقایسه میانگین طی دو سال آزمایش (جداول ۸ و ۹) نشان

داد که بیش‌ترین میزان عملکرد میوه و روغن در هکتار مربوط به تیمار آبیاری شاهد (۱۰۰ درصد نیاز آبی درختان زیتون در طول فصل رشد) و تیمار کم آبیاری T₂ بود، در مقابل کم‌ترین میزان عملکرد میوه در تیمار دیم مشاهده شد. عملکرد روغن تحت تأثیر درصد روغن و همچنین عملکرد میوه در هکتار می‌باشد بالا بودن عملکرد روغن در تیمار شاهد و تیمار کم آبیاری T₂، ناشی از عملکرد بالای میوه در هکتار بوده است در حالی که تیمار دیم به علت پایین بودن میزان عملکرد میوه، میزان روغن کمتری در هکتار داشت. در شرایط کم آبیاری شدید کاهش در عملکرد روغن می‌تواند به کاهش در عملکرد میوه مربوط باشد.

نتایج جدول تجزیه واریانس طی دو سال آزمایش (جدول ۷) نشان داد که درصد ماده خشک میوه تحت تأثیر تیمار آبیاری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود در حالی که تحت تأثیر سال در سطح آماری ۵ درصد معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین طی دو سال آزمایش (جداول ۸ و ۹) نشان داد که بین رژیم‌های آبیاری، بیشترین مقدار درصد ماده خشک در شرایط دیم مشاهده گردید و کمترین مقدار در تیمار شاهد حاصل شد (جدول ۵).

افزایش درصد ماده خشک در تیمارهای کم آبیاری شدید و شرایط دیم در مقایسه با آبیاری کامل نیز می‌تواند به محتوای آب در سلول‌ها ارتباط داشته باشد (۳۱). گیاهان مختلف مکانیسم‌های

متفاوتی مانند تغییر در محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی درون سلول‌ها را برای ایجاد مقاومت به خشکی دارند (۴، ۱۱ و ۱۴). تنش کم آبیاری می‌تواند به دو روش مستقیم و غیرمستقیم عملکرد روغن را در درختان زیتون تحت تنش کم آبیاری افزایش دهد که در روش مستقیم ممکن است ژن‌هایی در این مورد فعال شده و تولید روغن افزایش پیدا کند و در روش غیرمستقیم تنش کم آبیاری باعث کاهش رشد رویشی، بهبود نفوذ نور به داخل تاج درخت و تسریع در رسیدن میوه می‌گردد که این موارد به طور غیرمستقیم باعث افزایش روغن می‌گردند (۲۸). نتایج این پژوهش با نتایج فوق در مورد افزایش عملکرد روغن با افزایش کم آبیاری مطابقت دارد.

جدول ۷- تجزیه واریانس درصد ماده خشک میوه، عملکرد روغن و میوه و بهره‌وری مصرف آب در میوه زیتون

رقم 'زرد' در دو سال تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 7- Variance analysis of mass percent, oil and fruit yield and water use efficiency of fruit olive cv. 'Zard' in two years affected by five irrigation regimes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	ماده خشک Dry matter (%)	عملکرد روغن در هکتار Fruit yield/Ha (kg)	عملکرد میوه در هکتار Fruit yield/Ha (kg)	بهره‌وری مصرف آب در میوه Water use efficiency (kg/m ³)	بهره‌وری مصرف آب در روغن Water use efficiency (kg/m ³)
سال Year	1	133.15*	17854.10 ^{ns}	6690.10*	0.25 ^{ns}	0.04 ^{ns}
بلوک×سال Block×Year	4	32.97	34144.46*	296438.90	0.50	0.03
رژیم آبیاری Irrigation regime	4	1135.72**	1324546.79**	109203230.10**	98.35**	3.40**
رژیم آبیاری×سال Irrigation regime×Year	4	39.37 ^{ns}	15038.24 ^{ns}	1071987.50**	2.66**	0.08*
خطا Error	16	20.03	9365.19	153733.60	0.24	0.02
ضریب تغییرات C.V. (%)		10.58	12.28	6.46	11.33	19.71

ns, *, ** به ترتیب بی معنی، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

ns, *, **: Not significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول ۸- مقایسه میانگین درصد ماده خشک میوه، عملکرد روغن و میوه در هکتار و نیز میزان مصرف آب و بهره‌وری مصرف آب در میوه زیتون رقم 'زرد' در دو سال تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 8- Two years mean comparison of mass percent, oil and fruit yield, water consumption and water use efficiency of fruit olive cv. 'Zard' in two years affected by five irrigation regimes

رژیم آبیاری Irrigation regime	ماده خشک Dry matter (%)	عملکرد روغن در هکتار Oil yield/Ha (kg)	عملکرد میوه در هکتار Fruit yield/Ha (kg)	آب مصرفی Water consumption (m ³ /ha)	بهره‌وری مصرف آب در میوه water use efficiency (kg/m ³)	بهره‌وری مصرف آب در روغن water use efficiency (kg/m ³)
T ₁	30.32 c	1209.07 a	10580.00 a	6702.60a	1.60 c	0.18 c
T ₂	32.71 c	1301.07 a	10033.30 a	5527.6ab	1.93 c	0.25 c
T ₃	51.06 b	406.52c	2342.70 c	214.40c	10.91 a	1.90 a
T ₄	35.19 c	779.06 b	6076.7 b	4021.60b	1.55 c	0.19c
T ₅	62.16 a	243.13 c	1288.70 c	248.50c	5.44 b	1.01 b

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

Means with the same letters in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% of probability level..

جدول ۹- مقایسه میانگین درصد ماده خشک میوه، عملکرد روغن و میوه در هکتار و نیز میزان مصرف آب و بهره‌وری مصرف آب در میوه زیتون رقم 'زرد' طی دو سال تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

Table 9- Means comparison of mass percent, oil and fruit yield, water consumption and water use efficiency of fruit olive cv. 'Zard' in two years affected by five irrigation regimes

رژیم آبیاری Irrigation regime	سال Year	ماده خشک Dry matter (%)	عملکرد روغن در هکتار Oil yield/Ha (kg)	عملکرد میوه در هکتار Fruit yield/Ha (kg)	آب مصرفی Water consumption (m ³ /Ha)	بهره‌وری مصرف آب در میوه water use efficiency (kg/m ³)	بهره‌وری مصرف آب در روغن water use efficiency (kg/m ³)
T ₁	2016	29.87 b	1189.00a	10360.00 a	5930.00a	1.74c	0.20 c
	2017	30.78 c	1229.18 a	10800.00 a	7476.00a	1.44 c	0.16 c
T ₂	2016	33.26b	1289.90 a	9733.30 a	4075.00b	2.38 c	0.31 c
	2017	32.16c	1312.90 a	10333.30 a	6980.00b	1.48c	0.19 c
T ₃	2016	56.49 a	431.60 c	2185.30 c	205.00 e	10.67 a	2.11 a
	2017	45.63 b	381.45 c	2500.00 c	224.00d	11.16 a	1.70 a
T ₄	2016	35.98b	885.80 b	6820.00 b	3558.00c	1.91 c	0.25 c
	2017	34.39 c	672.36b	5333.30 b	4485.00c	1.19 c	0.15 c
T ₅	2016	66.38 a	264.60 c	1297.30 d	304.00d	4.26 b	0.87 b
	2017	57.94 a	221.68d	1280.00 d	193.00e	6.63 b	1.15 b

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر صفت، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.

Means with the same letters in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% of probability level.

نتیجه‌گیری

رشد رویشی، عملکرد روغن و میوه درختانی که قطع آبیاری را در مرحله سخت شدن هسته دریافت کردند (T₂)، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با شاهد (T₁) نداشت. عملکرد روغن و میوه تحت تأثیر رژیم آبیاری قرار گرفت، کمترین عملکرد روغن و میوه مربوط به تیمار دیم و بیشترین عملکرد روغن و میوه در تیمار شاهد و رژیم آبیاری (T₂) مشاهده گردید. در میان تیمارهای کم آبیاری تنظیم شده تیمار کم آبیاری (T₃)، بالاترین بهره‌وری مصرف آب در تولید روغن را داشت و کمترین بهره‌وری مصرف آب در تیمار شاهد (T₁) مشاهده شد.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب پروژه تحقیقاتی به شماره مصوب ۹۴۱۰۲-۰۳-۵۵-۲ با استفاده از اعتبارات پژوهشی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی انجام شده و نویسندگان بر خود لازم می‌دانند قدردانی خود را از مسئولان مربوط اعلام دارند و نیز از همکاران ایستگاه تحقیقات زیتون دالاهو شهرستان سرپل‌ذهاب به ویژه آقایان مهندس حاجی امیری و نجفی به خاطر کمک در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

بهره‌وری میزان آب آبیاری

میزان مصرف آب و بهره‌وری مصرف آب آبیاری محاسبه شده در تیمارهای مختلف در طی دو سال آزمایش در جداول ۸ و ۹ نشان داده شده است. نتایج جداول مربوطه نشان می‌دهد که بین رژیم‌های مختلف آبیاری، بیشترین میزان بهره‌وری مصرف آب در روغن مربوط به تیمار کم آبیاری T₃ بود و کمترین میزان بهره‌وری مصرف آب در روغن مربوط به تیمار کم آبیاری T₁، T₂ و T₄ بود هر چند که این تیمارها در یک کلاس قرار گرفتند.

بین رژیم‌های مختلف آبیاری، بیش‌ترین میزان بهره‌وری مصرف آب در میوه مربوط به تیمار کم آبیاری T₃ بود و و کمترین میزان بهره‌وری مصرف آب در میوه مربوط به تیمار کم آبیاری T₁، T₂ و T₄ بود هر چند که این تیمارها در یک کلاس قرار گرفتند.

بهره‌وری مصرف آب آبیاری یکی از عوامل مؤثر برای ارزیابی کارایی مدیریت مصرف آب آبیاری (۶ و ۲۰) است. نتایج تحقیقات انجام یافته نشان داد بهره‌وری مصرف آب بر اساس عملکرد با افزایش مصرف آب کاهش یافت (۸). افزایش کارایی مصرف آب تحت تنش کم آبی در درختان زیتون (۲)، در درختان انگور (۳۰) و نیز در درختان بادام (۲۹) گزارش شده است. نتایج این پژوهش موافق با پژوهش‌های قبلی در خصوص افزایش بهره‌وری مصرف آب با تیمار کم آبیاری می‌باشد (۲، ۱۹، ۲۹ و ۳۰).

منابع

- 1- Arzani K., and Arji I. 2000. The effect of water stress and deficit irrigation on young potted olive cv. Local-RoghaniRoodbar. Acta Horticulture, 537: 879-885.
- 2- Bacelar E.A., Santos D.L., Moutinho- Pereira J.M., Goncalves B.C., Ferreira H.F., and Correia C.M. 2006. Immediate responses and Adaptive strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. Plant and Soil, 170: 596-605.
- 3- Berenguer M.M.J., Gratten S., Conne J., Polito V., and Vossen P. 2002. Optimizing olive oil production and quality through irrigation management, university of California cooperative Extension and UC Davis.cesonomia.ucdavis.edu/files/51774-pdf
- 4- Calatrava J., and Franco J.A. 2011. Using pruning residues as mulch: Analysis of its adoption and process of diffusion in Southern Spain olive orchards. Journal of Environmental Management, 92(3): 620-629.
- 5- Caruso G., Gucci R., Urbani S., Esposto S., Taticchi A., Di Maio I., Selvaggini R., and Servili M. 2014. Effect of different irrigation volumes during fruit development on quality of virgin olive oil of cv. Frantoio. Agricultural Water Management, 134: 94-103.
- 6- Chai Q., Gan Y., Zhao C., Xu H.L., Waskom R.M., Niu Y., and Siddique K.H.M. 2015. Regulated deficit irrigation for crop production under drought stress. A review. Agronomy for Sustainable Development. 21p.
- 7- Chalmers D.J., Burge G., Jerie P.H., and Mitchell P.D. 1986 .The mechanism of regulation of Bartlett Pear fruit and vegetative growth by irrigation withholding and regulated deficit irrigation. Journal of the American Society for Horticultural Science, 111(6): 904-907.
- 8- Correa-Tedesco G., Rousseaux M.C., and Searles P.S. 2010. Plant growth and yield responses in olive (*Olea europaea* L.) to different irrigation levels in an arid region of Argentina. Agricultural Water Management, 97: 1829-1837.
- 9- Costa J.M., Ortuno M.F., and Chaves M.M. 2009. Deficit irrigation as a strategy to save water: Physiology and potential application to horticulture. Journal of Integrative Plant Biology, 49(10): 1421-1434.
- 10- Dell'Amico J., Moriana A., Corell M., Giron I.F., Morales D., Torrecillas A., and Moreno F. 2012. Low water stress conditions in table olive trees (*Olea europaea* L.) during pit hardening produced a different response of fruit and leaf water relations. Agricultural Water Management, 114: 11-17.
- 11- Elhami B., Zaare-Nahandi F., and Jahanbakhsh-Godehkahriz S. 2015. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on physiological and biological responses of olive (*Olea europaea* L. cv. Conservolia) under water stress. International Journal of Biosciences, 6(4): 148-156.
- 12- FAO. 2008. <http://www.fao.org/nr/water/ETto.html>. Accessed 27 November, 2014. Fereres, E and Soriano, M.A.2007. Deficit irrigation for reducing agricultural water use. Journal of Experimental Botany, 58: 147-159.
- 13- Gholami R., Arzani K., and Arji I. 2004. Effect of different irrigation amounts on vegetative growth of young potted olive (*Olea europaea* L.) cv. Manzanillo. In: Abstract book of 5th International Symposium on Olive Growing, 27 Sept-2 Oct., Izmir, Turkey. pp. 210.
- 14- Gholami R., Sarikhani H., and Arji I. 2016. Effects of deficit irrigation on some physiological and biochemical characteristics of six commercial olive cultivars in field conditions. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 17(1): 39-52. (In Persian)
- 15- Gholami R., Arzani K., and Arji I. 2013. Effect of Paclobotrazol (PBZ) and different irrigation amounts on vegetative growth and performance of young olive plants cv. Manzanillo. Journal of Horticultural Science, 26(4): 402-408. (In Persian)
- 16- Giron I.F., Corell M., Galindo A., Torrecillas E., Morales D., Dell'Amico J., Torrecillas F., Moreno A., and Moriana A. 2015. Changes in the physiological response between leaves and fruits during a moderate water stress in table olive trees. Agricultural Water Management, 148: 280-286.
- 17- I.O.O.C. 2002a. Methodology for the primary characterization of olive varieties. Project on conservation, characterization, collection of Genetic Resources in olive.
- 18- I.O.O.C. 2002b. Methodology for the secondary characterization (agronomic, phonological, pomological and oil quality) of olive varieties held in collection. Project on conservation, characterization, collection of Genetic Resources in olive.
- 19- Iniesta F., Testi L., Orgaz F., and Villalobos F.J. 2009 .The effects of regulated and continuous deficit irrigation on the water use, growth and yield of olive trees. European Journal of Agronomy, 30: 258-265.
- 20- Jacobsen S.E., Jensen C.R., and Liu F. 2012. Improving crop production in the arid Mediterranean climate. Field Crops Research, 128: 34-47
- 21- Li S.H., Huguet J.G., Schoch P.G., and Orlando P. 1989. Response of peach tree growth and cropping to soil water deficit at various phonological stages of fruit development. Journal of Horticulture Science, 64(5): 541-552.

- 22- Mezghani M.A., Charfi C.M., Gouiaa M., and Labidi F. 2012. Vegetative and reproductive behavior of some olive tree varieties (*Olea europaea* L.) under deficit irrigation regimes in semi-arid conditions of Central Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 146: 143-152.
- 23- Motilva M.J., Tovar M.J., Romero M.P., Alegre S., and Girona J. 2000. Influence of regulated deficit irrigation strategies applied to olive trees (Arbequina cultivar) on oil yield and oil composition during the fruit ripening period. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 80(14): 2037-2043.
- 24- Moriana A., Perez-Lopez D., Prietoc M.H., Ramirez-Santa-Pau M., and Perez-Rodriguez J.M. 2012. Midday stem water potential as a useful tool for estimating irrigation requirements in olive trees. *Agricultural Water Management*, 112: 43-54.
- 25- Naor A. 2006. Irrigation scheduling and evaluation of tree water status in deciduous orchards. *Horticultural Reviews*, 32: 111-165.
- 26- Perez-Lpez D., Ribas F., Moriana A., Olmedilla N., and de Juan A. 2007. The effect of irrigation schedules on the water relations and growth of a young olive (*Olea europaea* L.) orchard. *Agricultural Water Management*, 89: 297-304.
- 27- Rapoport H.F., Hammami S.B.M., Martins P., Perez-Priego O., and Orgaz F. 2012. Influence of water deficits at different times during olive tree inflorescence and flower development. *Environmental and Experimental Botany*, 77: 227-233.
- 28- Rosecrance R.C., Krueger W.H., Milliron L., Bloese J., Garcia C., and Mori B. 2015. Moderate regulated deficit irrigation can increase olive oil yields and decrease tree growth in super high density Arbequina olive orchards. *Scientia Horticulturae*, 190: 75-82.
- 29- Rouhi V., Samson R., Lemeur R., and Van Damme P. 2007. Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 117-129.
- 30- Ruiz-Sanchez M.C., Domingo R., and Castel J.R. 2010. Review. Deficit irrigation in fruit trees and vines in Spain. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(2): 5-20.
- 31- Sofo A., Manfreda S., Fiorentino M., Dichio B., and Xiloyannis C. 2008. The olive tree: A paradigm for drought tolerance in Mediterranean climates. *Hydrology and Earth System Sciences*, 12: 293- 301.
- 32- Tognetti R., D' Andria R., Lavivi A., and Morelli G. 2006. The effect of deficit irrigation on crop yield and development of *olea europaea* L., (cvs Frantoio and Leccino). *European Journal of Agronomy*, 25: 356-364.



Regulated Deficit Irrigation Regime Effects on Vegetative, Oil Yield and Oil Content and Water Use Efficiency of Zard Cultivar

R. Gholami^{1*}- I. Arji²

Received: 18-04-2018

Accepted: 01-09-2018

Introduction: Olive (*Olea europaea* L.) is an ever-green and drought-tolerant tree grown on regions with limited water resources to produce oil and table products. Due to existing appropriate environmental conditions in our country for its growing, and also considering public desperate needs to its oil product, olive is economically considered to be an important fruits to be cultivated. The problem of supplying sufficient water for irrigation olive orchards, due to serious threats of ongoing drought and reduction in water resources, is one of the main limiting factors on the way to develop olive industry in country. Accordingly, some suitable approaches like using tolerant cultivars, mulches, reduction of plant transpiration, plant growth regulators, and recently evaluating proper time for irrigation have been examined to increase efficiency of water use. According to this approach, irrigation schedule is designed mainly based on maintaining plant's water status internally and regarding maximum level of water potential at particular stages of plant cycling, especially at time of lowest sensitivity of fruit growth to drought stress.

So far, many studies performed over effects of drought stress and water deficit on vegetable growth of olive under pot conditions. With respect to establishing olive orchards on different regions of country and appearing serious drought threats, it is imperative to investigate the effects of regulated irrigation deficit on all bearing fruit trees. Hence, determining the insensitive stages of fruit growth toward regulated irrigation deficit has been received great attentions in terms of economical yield. The purposes behind doing the current study were to investigate and compare effects of different regulated deficit irrigations on vegetative and reproductive parameters of olive grown under field conditions.

Materials and Methods: This study was aimed to investigate the effect of regulated deficit irrigation regime on vegetative, oil yield and oil content and water use efficiency of zard cultivar under field condition. This experiment was conducted in Javanimiri region (Geographical characters was longitude of 58°, 45' E and latitude of 35°, 34' N and the height of sea level 1215m) located in Kermanshah province. An experiment was conducted based on a randomized complete block design with three replications. Adult olive zard cultivar was used. Each experiment unit consists of three trees. Vegetative and reproductive traits were evaluated according to I.O.O.C. descriptors. five irrigation regimes including of full irrigation (as control), regulated deficit irrigation (100% of full irrigation during growing season and no irrigation during pit hardening), irrigation in three stages (before flowering, pit hardening and before harvesting), 60% of full irrigation (continuous deficit irrigation) and no irrigation (Rainfed). To evaluate the effect of irrigation regimes, some vegetative traits including current season growth and current season diameter, dry and fresh oil content, fruit mass percent, oil and fruit yield and water use efficiency were measured. Collected data were analyzed using SAS program.

Results and Discussion: Obtained results showed that the highest oil and fruit yield were observed at full irrigation and regulated deficit irrigation (100% of full irrigation during growing and no irrigation during pit hardening, but the lowest one found at Rainfed. The water use efficiency of oil yield of T₃ was higher than 100ETc and other treatments.

In the arid and semi-arid as well as sub-tropical regions, water shortage is a normal phenomenon and seriously limits the agricultural potential. Therefore, under irrigation or rain-fed conditions, it is important for the available water to be used in the most efficient way. Regulated deficit irrigation is an optimizing strategy under which crops are allowed to sustain some degree of water deficit and yield reduction. During regulated deficit irrigation the crop is exposed to certain level of water stress either during a particular period or throughout the growing season. The main objective deficit irrigation is to increase water use efficiency (WUE) of the crop by eliminating irrigations that have little impact on yield, and to improve control of vegetative growth (improve fruit size and quality).

Conclusion: According to the results of this research, it can be concluded that regulated deficit irrigation had a significant effect on reproductive traits. Using regulated deficit irrigation improved pomological characteristics of olive including oil and fruit yield under drought stress and helped to save irrigation water in olive orchards.

Keywords: Irrigation, Oil, Olive

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

(*- Corresponding Author Email: gholami.rahmat@yahoo.com)

۲- Associate Professor Crop and Horticultural Science Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran



مقایسه عملکرد اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با یک پپتید نو ترکیب در کنترل عوامل مهم بیماری‌زای قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید

فرج الله شهریاری^{۱*} - عباس تنهائیان^۲ - مهدی اخلاقی^۳ - نرگس نظیفی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۷

چکیده

در پژوهش حاضر اسانس گیاهان زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و دو عصاره‌ی ایتانولی گیاهان کندل (*Dorema ammoniacum*) و چویل (*Ferulago angulata*) در مقایسه با یک پپتید نو ترکیب کایمری (لاکتوفراسین-لاکتوفرامپین) که از مهمترین اجزا ضد میکروبی شیر شتر می‌باشد جهت مهار عوامل بیماری‌زای قارچ خوراکی تکمه‌ای سفید، شامل باکتری *Pseudomonas tolaasii* و قارچ *Trichoderma harzianum* مورد ارزیابی قرار گرفتند. اسانس‌گیری با استفاده از کلونجر و عصاره‌ها با استفاده حلال متانول ۸۰ درصد و با روش خیساندن بدست آمد. پپتید نو ترکیب کایمری از سلول‌های کلیه جنین انسان (HEK 293) استحصال شد. خصوصیات ضد باکتریایی و قارچی ترکیبات مورد آزمایش به ترتیب با استفاده از روش دیسک و اختلاط با محیط کشت بررسی گردید. حداقل غلظت باز ماندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری (MBC) و قارچ (MFC) محاسبه شد. تمام آزمایش‌ها با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. نتایج ارزیابی‌های ضد باکتریایی نشان داد که پپتید کایمری، در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین عملکرد را با میانگین قطر هاله بازدارنده ۳۲/۲ میلی‌متر در بین ترکیبات مورد بررسی داشت و بعد از آن اسانس زیره سبز و عصاره کندل به ترتیب با هفت و شش میلی‌متر دارای بیشترین اثر ضد باکتریایی بودند. نتیجه اثرات ضد قارچی ترکیبات مورد آزمایش در مدت زمان هفت روز نشان داد که اسانس‌های گیاهان زیره سبز و آویشن شیرازی بطور کامل از رشد قارچ *T. harzianum* جلوگیری کردند و بعد از آن عصاره گیاهان کندل و چویل با میانگین رشد کلنی قارچ به میزان ۲۶ و ۶۰/۶۶ میلی‌متر بیشترین اثر ضد قارچی را دارا بودند. کمترین اثر ضد قارچی در مورد پپتید نو ترکیب کایمری بدست آمد. با توجه به نتایج این پژوهش، پپتید کایمری اثرات ضد باکتریایی بیشتری در مقایسه با اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارا بود و در مقابل اسانس‌ها و عصاره‌ها در مقایسه با پپتید مورد آزمایش از توان ضد قارچی بیشتری برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد میکروبی، پپتید ضد میکروبی، *Trichoderma harzianum*، *Pseudomonas tolaasii*

مقدمه

شده است که قارچ خوراکی تکمه‌ای از مناسب‌ترین گزینه‌ها جهت تکمیل سبد غذایی انسان به شمار آید (۲۷ و ۳۷)، در نتیجه تلاش برای توسعه کشت و کاهش هزینه‌های تولید از طریق مهار عوامل بیمارگر این محصول، امری ارزشمند محسوب می‌شود (۲). کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی از اهداف همیشگی در تأمین امنیت غذایی به شمار می‌آید که رایج‌ترین راهکار استفاده از سموم شیمیایی است ولی عوارض نامطلوب سموم شیمیایی انکارناپذیر است و مطالعات متعددی حاکی از تأثیرات ناخواسته و نامناسب به کارگیری سموم کشاورزی بر محیط زیست و سلامت انسان می‌باشد (۵ و ۱۱). از طرفی با توجه به نوع مصرف قارچ خوراکی توجه به ترکیبات جایگزین سموم شیمیایی اجتناب‌ناپذیر است. از نوین‌ترین جایگزین‌های سموم و ترکیبات شیمیایی، به کارگیری ترکیبات بدست آمده از طبیعت مانند

قارچ خوراکی به عنوان منبع غنی از پروتئین دارای جایگاه ویژه‌ای در بین مواد غذایی می‌باشد و قادر به تولید بیشترین مقدار پروتئین در واحد سطح نسبت به اکثریت مواد غذایی می‌باشد (۳۱). مقادیر قابل توجه‌ای از ویتامین‌ها، اسیدفولیک و مواد معدنی سبب

۱ و ۲- استاد و دانش آموخته دکتری، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

۳- دانشجوی دکتری، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

اسانس‌ها، عصاره‌های گیاهی و همچنین پپتیدهای ضد میکروبی^۱ (AMPs) موجود در سایر جانداران می‌باشد (۱، ۴ و ۱۷). در حال حاضر جستجو برای یافتن ترکیبات مفید از گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌های گیاهی، توجه زیادی را به خود جلب کرده و شامل طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه مانند آلکالوئیدها، کوینون‌ها، فلاونوئیدها، گلیکوزیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها و ترپنوئیدها می‌باشند. از این رو مطالعات گسترده‌ای در مورد کاربرد این گروه از ترکیبات در مهار عوامل بیماری‌زای گیاهی انجام شده است (۲۲ و ۳۸). پژوهش‌های متعدد حاکی از پتانسیل بالای عصاره‌های گیاهی در مهار طیف گسترده‌ای از پاتوژن‌های انسانی، جانوری و گیاهی است که با توجه به مشکلات زیست محیطی سموم، به عنوان جایگزین قابل اعتماد محسوب می‌شوند (۳۳). به کارگیری پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) برای مهار عوامل بیماری‌زای گیاهی یکی دیگر از راهکارهای نوین جهت جایگزینی سموم شیمیایی است (۱۲). این پپتیدها به طور طبیعی در ارگانسیم‌های مختلف شامل از باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها تا گونه‌های گیاهی و جانوری یافت می‌شوند (۷، ۸). کمبود این پپتید در منابع طبیعی همراه با هزینه‌های استخراج و تخلیص، محققین را به تلاش برای جایگزینی فن‌آوری DNA نو ترکیب برای دستیابی به این محصولات ارزشمند زیستی هدایت کرده است. به لطف پیشرفت در مهندسی ژنتیک، پپتیدهای ضد میکروبی را می‌توان در مقایسه با منابع طبیعی و ساخت بیوشیمیایی در مقیاس صنعتی با هزینه‌ای قابل قبول تولید نمود (۲۹). لاکتوفرین (Lactoferricin) و لاکتوفرامپین (Lactoferrampin) دو پپتید ضد میکروبی هستند که مهمترین اجزا لاکتوفرین (Lactoferrin) شیر به شمار می‌روند. لاکتوفرین به عنوان گلیکوپروتئین (۸۰ کیلو دالتون) اتصال دهنده آهن شناخته شده است که در ترشحات غلیظ، شیر، ترشحات مخاطی و دستگاه گوارش وجود دارد (۱۹، ۲۰). مطالعات قبلی نشان داده است که اثر ضد میکروبی پپتید کایمری لاکتوفرین به همراه لاکتوفرامپین قوی‌تر از اثر هر یک به تنهایی می‌باشد (۴۲). قارچ تکمهای *Agaricus bisporus* Imbach (Lange) که به عنوان یک محصول مهم در کشاورزی محسوب می‌شود و نسبت به عوامل بیماری‌زای باکتریایی و قارچی نظیر *Pseudomonas tolaasii* عامل بیماری لکه قهوه‌ای و *Trichoderma harzianum* عامل بیماری کپک سبز، بسیار حساس می‌باشد. بیمارگرهای فوق عامل کاهش کمی و کیفی این محصول ارزشمند غذایی هستند (۴۱). از طرف دیگر استفاده از سموم شیمیایی در مهار عوامل بیمارگر، برخی از عوارض جانبی مانند باقی ماندن این مواد در قارچ خوراکی را در پی دارد (۳۵). با در نظر گرفتن آثار بالقوه اسانس‌ها، عصاره گیاهی و پپتیدهای ضد میکروبی، در پژوهش

حاضر به بررسی آثار مهارکنندگی ترکیبات فوق علیه *P. tolaasii* و *T. harzianum* به عنوان مهمترین بیمارگرهای قارچ خوراکی تکمهای سفید پرداخته شد. در این پژوهش، ارزیابی‌های ضد باکتریایی و ضد قارچی اسانس گیاهان زیره سبز (*Cuminum cyminum*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و عصاره گیاهان کندل (*Dorema ammoniacum*)، چویل (*Ferulago angulata*) و پپتید کایمری نو ترکیب بر روی دو بیمارگر مهم قارچ خوراکی صورت گرفت و نتایج این پژوهش چشم‌انداز نوید بخشی از کاربرد ترکیبات جایگزین سموم در شرایط آزمایشگاهی را در اختیار ما قرار داد.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی

گیاهان از رویشگاه‌های طبیعی جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه گروه باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شدند. در ادامه شستشوی سطحی بافت‌های گیاهی توسط آب مقطر سترون انجام شد و گیاهان در شرایط استاندارد (دمای اتاق و سایه) خشک شدند. سپس از قسمت‌های مختلف گیاهان برای تهیه اسانس و عصاره استفاده بعمل آمد (جدول ۱) (۱۰).

فرآیند اسانس‌گیری و عصاره‌گیری

۱۰۰ گرم از بافت گیاهی خرد و سپس توسط دستگاه کلونجر از طریق فرآیند تقطیر به مدت ۳ ساعت استخراج و نهایتاً اسانس به دست آمده به وسیله سولفات سدیم (Na_2SO_4) آب‌گیری و در شیشه‌های تیره سترون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۴). جهت تهیه عصاره گیاهی پس از خشک کردن قسمت‌های مختلف گیاهان به آنها اتانول ۸۰٪ و آب مقطر (با نسبت ۱ به ۶ پودر به حلال) اضافه گردید و به مدت ۴۸ ساعت به آرامی بر روی دستگاه دورانی (با تکان ۵۰ دور در دقیقه) جهت استخراج ترکیبات قرار داده شد. سپس مخلوطی از حلال و گیاه، با استفاده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴۱)، فیلتر شده و عصاره اولیه به دست آمد. ماده باقی مانده برای جدا کردن حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد درون دستگاه روتاری^۲ قرار گرفت تا به صورت کامل خشک گردید. پس از خشک شدن کامل، پودر عصاره‌ها در دمای منفی ۱۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۳۲).

جدول ۱- مشخصات گیاهان استفاده شده در این پژوهش
Table 1- Characteristics of plants used in this research

ردیف No	نام گیاه Plant	نوع ترکیب Combination type	نام علمی Scientific name	خانواده Family	اندام مورد استفاده Plant part used	منطقه جمع‌آوری (استان) Collecting area (Province)
1	آویشن شیرازی Shirazi thyme	اسانس Essential oil	<i>Zataria multiflora</i>	Lamiaceae	برگ Leaves	فارس Fars
2	زیره سبز Cumin	اسانس Essential oil	<i>Cuminum cyminum</i>	Apiaceae	بذر Seed	سمنان Semenan
3	کندل Ammoniacum	عصاره Plant extract	<i>Dorema ammoniacum</i>	Apiaceae	برگ / ساقه Leaves / stems	خراسان رضوی Razavi Khorasan
4	چویل Ferulago	عصاره Plant extract	<i>Ferulago angulata</i>	Apiaceae	برگ / ساقه Leaves / stems	کهگیلویه و بویراحمد Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad

ترانسفکت شده با وکتور بیانی دارنده سیگنال ترشحی (+3.1 Pcdna) و حاوی توالی کدکننده کایمر نو ترکیب بودند، استفاده گردید. بدین منظور ابتدا این لاین سلولی ترانسفکت شده را کشت و سپس اقدام به جمع‌آوری محیط کشت حاوی پپتید نو ترکیب نموده و از آن برای آزمون ضد میکروبی استفاده گردید. سلول‌های HEK 293 ترانسفکت شده در محیط کشت DMEM (سیگما آلدریج، آمریکا) حاوی ۱۰ درصد سرم (calf serum Fetal FCS، شرکت Gibco، آمریکا)، ۱ درصد از مخلوط آنتی بیوتیک پنی سیلین - استرپتومیسین (P/S شرکت Gibco، آمریکا) و در شرایط انکوباتور دی‌اکسید کربن دار (۵ درصد CO₂) دارای رطوبت ۵٪ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد و سپس محیط کشت حاوی پپتید نو ترکیب جمع‌آوری و برای ارزیابی‌های ضد میکروبی مورد استفاده قرار گرفت (۴۲ و ۳۶).

بررسی اثر ضد باکتریایی ترکیبات مورد آزمایش

باکتری *P. tolaasii* در محیط LB مایع در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت رشد داده شد. در ادامه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت ۱×۱۰^۸ CFU/ml^۴ در سطح محیط کشت مولر هینتون آگار^۴ (کیوب، مونترال، کانادا/ ۲۲ گرم در لیتر) به صورت یکنواخت پخش شد و پس از گذشت ۱۰ دقیقه سطح محیط خشک گردید. سپس در سطح محیط از دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر (شرکت طب آزما) که به فاصله ۳ سانتی‌متری از یکدیگر قرار گرفته بودند استفاده شد. مقادیر ۱۰ و ۲۰ میکرولیتر (معادل غلظت ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای اسانس‌ها و عصاره‌های مورد آزمایش) و چهار غلظت ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پپتید نو ترکیب بر روی هر دیسک قرار داده شد.

تهیه عوامل بیماری‌زای باکتریایی و قارچی و شرایط رشد

جدایه استاندارد باکتری *Pseudomonas tolaasii* CH36 و جدایه قارچی *Trichoderma harzianum* به ترتیب از گروه بیوتکنولوژی و به نژادی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و مرکز جهاد دانشگاهی دانشگاه فردوسی مشهد (ACECR) تهیه گردید. به منظور کشت تازه باکتری از جدایه‌ی نگهداری شده در فریزر، ۳۰ میکرولیتر از جدایه مورد نظر درون ۳ میلی‌لیتر محیط کشت لوریا- برانتی مایع^۱ (LB) (لیوفلیکم، ترآمو، ایتالیا/ ۲۵ گرم در لیتر) انتقال داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد بر روی دستگاه دورانی (با تکان ۱۰۰ دور در دقیقه) انکوبه گردید. پس از رشد جدایه مورد نظر به صورت چمنی بر روی محیط کشت KB^۲ (مرک، آلمان، ۳۳ گرم در لیتر) کشت داده شد (۲). همچنین جهت استفاده از قارچ پس از کشت مجدد در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار^۳ (PDA) (لیوفلیکم، ترآمو، ایتالیا/ ۳۹ گرم در لیتر) و رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت از نواحی حاوی هیف تازه جهت ادامه آزمایش‌ها استفاده به عمل آمد (۴).

آماده‌سازی پپتید نو ترکیب کایمری لاکتوفرین-لاکتوفرامپین

با توجه به اینکه این مطالعه در ادامه پژوهش دیگری در زمینه سنتز پپتید نو ترکیب ضد میکروبی در گروه بیوتکنولوژی گیاهی و به نژادی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد بود، لذا از سکوی تولید این پپتید که طی آن سلول‌های کلیه جنین انسان (HEK 293)

1- Luria-Bertani broth
2- King's B
3- Potato Dextrose Agar

4- Muller-Hinton Agar

برای شاهد منفی آزمایش از محلول دی متیل سولفوکساید^۱ (DMSO) یک درصد استفاده شد (۴۱).

ارزیابی میزان اثر ضد قارچی ترکیبات مورد آزمایش

اثر ضد قارچی با روش اختلاط با محیط کشت PDA مورد آزمایش قرار گرفت. بدین منظور ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر یک از ترکیبات مورد آزمایش به ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت PDA اضافه شد و در ادامه درون پتری ۸ سانتیمتری توزیع گردید. جهت بررسی اثر ضد قارچی پیتید پتید از پنج غلظت ۳۰، ۴۰، ۸۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پتید استفاده شد. قطعات هم اندازه (۳ تا ۴ میلی‌متر) قارچ *T. harzianum* در وسط هر پتری بر روی محیط کشت قرار گرفت. پتری تلقیح شده در ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. با گذشت ۲۴ ساعت و رشد قارچ، قطر کلنی برای ۷ روز متوالی اندازه‌گیری و با شاهد (محیط کشت فاقد ترکیبات مورد آزمایش) مقایسه گردید (۳۴).

آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی باکتری

Pseudomonas tolaasii

بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هیتون مایع (کیوب) به هر چاهک میکروپلیت اضافه گردید. سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر از پتید، اسانس و عصاره اضافه و از چاهک دوم به سوم و به همین ترتیب تا چاهک یازدهم رقیق شد (غلظت‌های هر چاهک به ترتیب ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵، ۶۲/۵، ۳۱/۲۵، ۱۵/۶، ۷/۸۱، ۳/۹۰، ۱/۹۵ و ۰/۹۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد). در انتها به همه چاهک‌ها ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل 5×10^5 CFU/ml اضافه شد. چاهک شماره ۱۱ هر ردیف به عنوان کنترل منفی، فقط حاوی محیط کشت، و ترکیبات مورد استفاده (بدون حضور باکتری) و چاهک شماره ۱۲ هر ردیف نیز به عنوان کنترل مثبت که شامل محیط کشت، دی متیل سولفوکساید یک درصد و باکتری بود. بعد از تلقیح باکتری، میکروپلیت بر روی دستگاه دورانی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردید. بعد از اتمام انکوباسیون، کدورت یا عدم کدورت در چاهک به صورت چشمی مشاهده و جذب نوری توسط دستگاه خوانش گر الیزا (STAT FAX 2100) در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید. برای تعیین MIC از کمترین غلظتی که فاقد هرگونه کدورت بود استفاده شد. جهت اندازه‌گیری MBC، از چاهک‌های فاقد کدورت مقدار ۵ میکرولیتر بر روی محیط آگار غذایی^۲ (NA) کشت داده شد. پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، کمترین رقتی

که توانسته ۹۹/۹ درصد از باکتری‌ها را نابود کند (با کشت دادن بر روی محیط NA)، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. کلیه مراحل آزمایش سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ارائه گردید (۹).

آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی برای قارچ

Trichoderma harzianum

در ابتدا غلظت‌های ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر یک از ترکیبات مورد آزمایش تهیه گردید. پس از آماده‌سازی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA و پس از رسیدن به دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد غلظت‌های مختلف ترکیبات مورد آزمایش به آنها اضافه گردید. یک پتری به عنوان شاهد مثبت (بدون ترکیبات مورد آزمایش) و یک پتری حاوی محیط کشت و دی متیل سولفوکساید یک درصد به عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. در ادامه قطعات مساوی از قارچ بر روی محیط کشت قرار گرفت، پتری‌ها در دمای ۲۵ به مدت ۷۲ ساعت انکوبه گردیدند. پتری‌ها از نظر گسترش کلنی قارچ یا عدم رشد مورد ارزیابی قرار گرفتند. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) شامل غلظتی است که در آن کاهش رشد قارچ نسبت به شاهد مثبت مشهود بود. همچنین حداقل غلظت کشندگی (MFC) قارچ شامل غلظتی از ترکیبات مورد آزمایش بود که طی سه روز انکوباسیون هیچ گونه رشد قارچ، نسبت به شاهد مثبت مشاهده نگردید. کلیه مراحل آزمایش سه بار تکرار شد و نتایج به صورت میانگین ارائه گردید (۳۵).

آنالیز آماری

تمام آزمایش‌ها با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها برای پارمترهای مورد مطالعه از نرم‌افزار Minitab (version 15) استفاده شد. برای مقایسه مقادیر ناحیه بازدارنده تیمارهای مورد بررسی از روش Fisher LSD با سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel (2013) استفاده بعمل آمد.

نتایج

۱- نتایج اثر ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی

علیه باکتری *P. tolaasii*

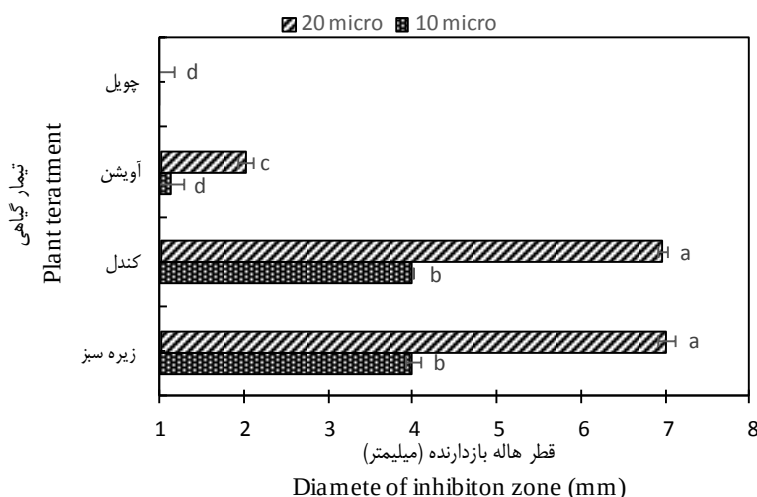
اسانس گیاه زیره سبز (*C. cyminum*) و عصاره گیاه کندل (*D. ammoniacum*) هر یک با ایجاد هاله بازدارنده به قطر هفت میلی‌متر (از لبه دیسک) در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، بیشترین اثر ضد باکتریایی را نشان دادند، در حالی که اسانس گیاه آویشن شیرازی (*Z. multiflora*) و چویل (*F. angulata*) با هاله بازدارنده دو و یک میلی‌متری اثر ضد باکتریایی کمتری را از خود بروز دادند

1- Dimethyl sulfoxide (DMSO)

2- Nutrient agar (NA)

تیمارها از حداقل اثر ضد باکتریایی برخوردار بود در حالی که استفاده از غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در مورد اسانس آویشن و عصاره چویل فاقد هر گونه اثر ضد باکتریایی بود و می‌توان اظهار داشت که دو ترکیب گیاهی فوق در غلظت‌های به کار برده شده فاقد اثر ضد میکروبی مؤثر بودند. در نتیجه باید بیان داشت، افزایش قدرت ضد باکتریایی ترکیبات مورد بررسی با افزایش غلظت ترکیبات مورد استفاده از یک ارتباط مستقیم بهره‌مند بود.

(شکل ۱- جدول ۲). مقایسه بین دو غلظت تیمارهای مورد آزمایش نشان داد، میانگین قطر هاله بازدارنده (سه تکرار برای هر تیمار در دو غلظت مختلف) در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین تقریبی ۳ میلی‌متر به طور معنی‌داری عملکرد بهتری نسبت به غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین ۱/۵ میلی‌متر دارا بود. همچنین مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای گیاهی با غلظت آنها نشان داد که استفاده از غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، در مورد تمامی



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای گیاهی در دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه باکتری *P. tolaasii*
Figure 1- Mean comparison of the interaction effects between two concentrations of plant treatments (10 and 20 µg/ml) against *P. tolaasii*

جدول ۲- قطر هاله بازدارنده در دو غلظت ۱۰ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر علیه *P. tolaasii* بر حسب میلی‌متر
Table 2 -The diameter of the inhibition zone (mm) in the two concentrations 10 and 20 µg/ml used against *P. tolaasii*

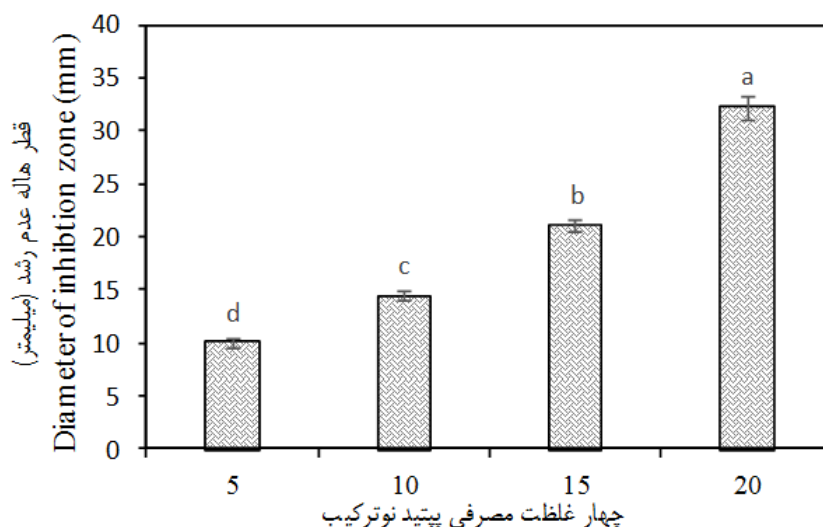
ردیف NO.	تیمار Treatment	غلظت Concentration	
		10 µg/ml	20 µg/ml
1	زیره سبز <i>Cuminum cyminum</i>	4	7
2	کندل <i>Dorema ammoniacum</i>	4	7
3	آویشن <i>Zataria multiflora</i>	1	2
4	چویل <i>Ferulago angulata</i>	0	1

در هر چهار غلظت بکار برده شده از توان ضد میکروبی برخوردار بود. بیشترین میانگین قطر هاله بازدارنده علیه باکتری *P. tolaasii* مربوط به استفاده از غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین عملکرد در

۲- نتایج اثر پتید نو ترکیب کایمری ضد باکتری *P. tolaasii*
نتایج اثر ضد میکروبی پتید کایمری مورد آزمایش نشان داد که

مؤثرتر ارزیابی شد (جدول ۲). میانگین نتایج قطر هاله بازدارنده در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ به ترتیب ۱۰/۳، ۱۴/۶۳ و ۲۱/۰۶ میلی‌متر بدست آمد. با مقایسه غلظت‌ها مشخص شد که یک ارتباط مستقیم بین غلظت پپتید نوترکیب و افزایش قدرت ضد باکتریایی وجود دارد.

غلظت ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. تجزیه واریانس آماری نشان داد که اختلاف آماری معنی‌دار بین چهار غلظت ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ پپتید کایمری ($P < 0/0001$ و $M: 57.79$, $DF: 4$) وجود داشت (شکل ۲). در مقایسه با ترکیبات گیاهی مورد آزمایش پپتید نوترکیب در غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با میانگین هاله بازدارنده ۳۲/۲ میلی‌متر از دو اسانس آویشن شیرازی، زیره سبز و دو عصاره کندل و چویل در کنترل باکتری عامل بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی



Treatment of four concentrations of recombinant peptide

شکل ۲- نتایج قطر هاله بازدارنده بر روی باکتری *P. tolaasii* در چهار غلظت مختلف از پپتید کایمری برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر
Figure 2- The results of the inhibition zone on *P. tolaasii* bacteria in four different concentrations of chimeric peptide (µg/ml)

ترکیبات مورد آزمایش در جلوگیری از رشد قارچ، از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/0001$). مقایسه میانگین نتایج نشان داد که اسانس گیاهان زیره سبز و آویشن با جلوگیری کامل از رشد قارچ از توانایی بسیار مطلوبی در کنترل قارچ برخوردار بودند. گسترش کلنی قارچ *T. harzianum* در محیط کشت شاهد (فاقد ترکیبات مورد آزمایش) در مدت زمان پنج روز کامل گردید (۷۰ میلی‌متر). تیمار حاوی عصاره کندل با رشد کلنی به میزان ۲۶ میلی‌متر (در مدت زمان هفت روز) در جایگاه بعدی قرار گرفت. اما عصاره چویل با رشد کلنی قارچ به میزان ۶۵/۱۷ میلی‌متر در مدت زمان هفت روز کمترین اثر را در بین ترکیبات به کار برده شده نشان داد. نتایج بیانگر این نکته بود که اسانس‌ها نسبت به عصاره‌ها از قدرت ضد قارچی بیشتری علیه قارچ *T. harzianum* برخوردار بودند (جدول ۴).

۳- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی ترکیبات

مورد بررسی علیه باکتری *P. tolaasii*

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) فعالیت باکتری برای تیمارهای پپتید نوترکیب، اسانس زیره سبز و عصاره گیاه کندل به ترتیب ۳۱/۲، ۷/۸۱ و ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد کمترین MIC مربوط به عصاره چویل می‌باشد (جدول ۳). مقادیر MIC و MBC عصاره کندل و اسانس آویشن به صورت یکسان بدست آمد. همچنین حداقل غلظت کشندگی (MBC) ترکیبات فوق به ترتیب ۱۵/۶، ۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد گردید. سایر نتایج در شکل جدول ۳ نشان داده شده است.

۴- بررسی اثر ضد قارچی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس اثر ضد قارچی ترکیبات مورد آزمایش بر میزان رشد قارچ *T. harzianum* نشان داد، بکارگیری

جدول ۳- نتایج MIC و MBC برای باکتری تحت تیمارهای گوناگون

Table 3- MIC and MBC results for bacteria under various treatments

ردیف NO.	تیمارهای گیاهی و پپتید Plant treatment and Peptide	<i>P. tolaasii</i>	
		MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)
1	پپتید کایمری Chimeric peptide	7.81	15.6
2	زیره سبز <i>Cuminum cyminum</i>	31.2	62.5
3	کندل <i>Dorema ammoniacum</i>	62.5	125
4	آویشن <i>Zataria multiflora</i>	62.5	125
5	چویل <i>Ferulago angulata</i>	125	250

جدول ۴- میزان رشد کلنی قارچ در مدت زمان یک هفته تحت تیمارهای مورد آزمایش به میلی‌متر

Table 4- The growth rate of the fungal colony in the weekly period of the treated treatments (mm)

ردیف No	تیمار Treatment	روز Day						
		1	2	3	4	5	6	7
1	زیره سبز <i>Cuminum cyminum</i>	0	0	0	0	0	0	0
2	آویشن <i>Zataria multiflora</i>	0	0	0	0	0	0	0
3	کندل <i>Dorema ammoniacum</i>	0	7	9	14	17	20	26
4	چویل <i>Ferulago angulata</i>	8	23	30	38	46	55	60
5	شاهد (محیط کشت) Control (Medium)	9	21	57	64	70	70	70

بررسی اثر ضد قارچی پپتید کایمری

نتایج فعالیت ضد میکروبی پپتید کایمری نو ترکیب در جدول ۵ نشان داده شده است. بیشترین اثر ضد قارچی در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. با توجه به مقایسه میانگین، با افزایش غلظت پپتید تا ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، قطر رشدی پرگنه قارچ *T. harzianum* به طور معنی داری کاهش پیدا کرد. با این حال، تفاوت معنی داری بین غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر و شاهد (محیط کشت بدون پپتید کایمری) وجود نداشت. همچنین بین استفاده از غلظت‌های ۲۰۰ و ۱۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. به طور کلی می‌توان بیان داشت که در غلظت‌های بیشتر، پپتید کایمری نقش ضد قارچی بهتری از خود نشان داد (جدول ۵). با توجه به نتایج تجزیه واریانس، در غلظت‌های ۸۰، ۱۶۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، پپتید کایمری اثر قابل توجهی بر کنترل قارچ داشت ($P < 0.0001$)، اما در غلظت ۳۰

میکروگرم بر میلی لیتر تفاوت معنی داری در جلوگیری از رشد با کنترل مشاهده نگردید (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه اثر پپتید کایمری، اسانس‌ها و عصاره‌ها در غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر در جدول شماره ۶ نشان داده شده است.

۵- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی بر ضد قارچ

T. harzianum

نتایج تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MFC) برای قارچ بیمارگر *T. harzianum* نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) برای پپتید کایمری، عصاره کندل و چویل در این پژوهش به ترتیب ۱۲۵، ۶۵/۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود (جدول ۷- شکل ۳). نتایج حداقل غلظت کشندگی قارچی (MFC) عصاره چویل و کندل نیز ۲۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد. سایر نتایج در جدول ۷ نشان داده شده است.

جدول ۵- نتایج تأثیر پپتید کایمری بر روی پیشرفت کلنی قارچ در پنج غلظت مختلف

Table 5- Results of the effect of peptide on fungi at four concentrations

ردیف No	غلظت (میکروگرم بر میلی لیتر) Concentration (µg/ml)	نرخ رشد کلنی قارچ (میلی متر) Fungal colony growth rate (mm)
1	Control	70.43 ^A
2	30	69.17 ^A
3	40	68.21 ^{AB}
4	80	64.66 ^C
5	160	61.67 ^{CD}
6	200	59.71 ^D

جدول ۶- مقایسه اثر ترکیبات در غلظت های ۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر در مدت ۷ روز بر قارچ *T. harzianum*

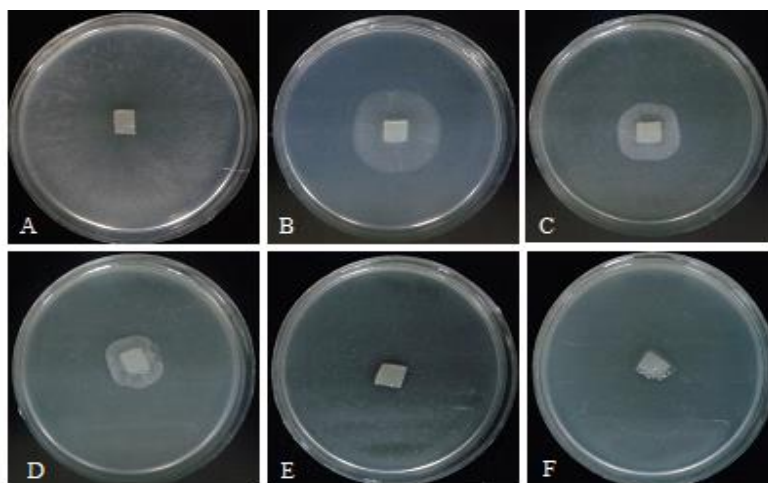
Table 6- Comparison of the effect of compounds in concentration of 30 µg/ml for 7 days on *T. harzianum*

ردیف No.	تیمارها Treatments	قطر کلنی قارچ (میلی متر) Fungi colony diameter (mm)
1	شاهد Control	70.33 ^A
2	پپتید کایمری Chimeric peptide	69.17 ^A
3	چویل <i>Ferulago angulata</i>	60.66 ^B
4	کندل <i>Dorema ammoniacum</i>	26 ^C
5	زیره سبز <i>Cuminum cyminum</i>	0 ^D
6	آویشن <i>Zataria multiflora</i>	0 ^D

جدول ۷- نتایج MIC و MBC برای باکتری تحت تیمارهای گوناگون

Table 7- MIC and MBC results for bacteria under various treatments

ردیف NO.	تیمارها Treatments	<i>T. harzianum</i>	
		MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)
1	آویشن <i>Zataria multiflora</i>	-	-
2	زیره سبز <i>Cuminum cyminum</i>	-	-
3	پپتید کایمری Chimeric peptide	62.5	125
4	کندل <i>Dorema ammoniacum</i>	125	250
5	چویل <i>Ferulago angulata</i>	250	250



شکل ۳- نتیجه حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره گیاه کندل بر روی قارچ تریکودرما در غلظت‌های:

A: شاهد، B: ۱۵/۶ µg/ml، C: ۳۱/۲۵ µg/ml، D: ۶۲/۵ µg/ml، E: ۱۲۵ µg/ml، F: ۲۵۰ µg/ml

Figure 3- Minimum inhibitory concentration (MIC) of Cannabis extract on *Trichoderma* fungi at concentrations:

A: Control, B: 15.6 µg/ml, C: 31.2 µg/ml, D: 62.5 µg/ml, E: 125 µg/ml, F: 250 µg/ml

بحث

امروزه قارچ خوراکی تکه‌های از مناسب‌ترین منابع تأمین پروتئین غذای انسان به شمار می‌آید، که مزایای بسیاری از جمله تولید زود بازده (در مقایسه با منابع پروتئینی حیوانی) و ارزش غذایی آن، سبب توجه روز افزون به این صنعت شده است. عوامل بیماری‌زا (باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها) هر ساله موجب خسارت زیادی به تولیدات این صنعت در سراسر دنیا می‌شوند، بنابراین مبارزه با عوامل بیماری‌زا برای افزایش کمی و کیفی تولید اجتناب‌ناپذیر است. از این رو بطور معمول برخی ترکیبات حاوی کُله‌ر، فرمالین، بنومیل، اسپورگون (Sporgon) برای کنترل عوامل بیماری‌زا در این صنعت پیشنهاد می‌شود که متأسفانه مانند سایر سموم شیمیایی می‌تواند تهدیدی برای سلامتی انسان، به شمار آیند و دارای اثرات نامطلوب بر محیط زیست می‌باشند (۲۱ و ۴۱). از طرف دیگر استفاده از سموم شیمیایی، در مهار عوامل بیماری‌زای قارچ خوراکی به دلیل فاصله زمانی ناچیز بین تولید و مصرف، استفاده از آنها را محدودتر و گاه غیر ممکن ساخته است (۳۵)، بنابراین، امروزه تمایل به استفاده از ترکیبات جایگزین سموم شیمیایی در صنعت تولید قارچ خوراکی روند رو به افزایشی را نشان می‌دهد (۱۳). استفاده از باکتری و قارچ‌کش‌های همسو با طبیعت مانند فرآورده‌های بدست آمده از گیاهان و پپتیدهای ضد میکروبی ممکن است اثرات مضر ترکیبات شیمیایی بر سلامت انسان و محیط زیست پیرامون را نداشته باشد و مدت زمان نگهداری محصولات را نیز افزایش دهند. از این رو در پژوهش حاضر استفاده از جایگزین‌هایی نظیر اسانس‌ها، عصاره‌ها و یک پپتید نو ترکیب به عنوان راهکاری نوین در مهار بیمارگرهای قارچ خوراکی مورد ارزیابی قرار گرفتند و توان ضد میکروبی این ترکیبات با ماهیت متفاوت مورد

مقایسه قرار گرفت. ارزیابی عملکرد اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در این پژوهش نشان داد که اسانس گیاه زیره سبز از اثر ضد باکتریایی مناسبی علیه باکتری *P. tolaasii* برخوردار بود که نتایج پژوهش حاضر با نتایج مطالعات قبلی پیرامون اثر ضد باکتریایی اسانس گیاه زیره سبز در مهار باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مطابقت داشت (۳۰ و ۳۹). اسانس آویشن نیز دارای عملکرد مناسبی علیه باکتری *P. tolaasii* بود که نتایج حاصل تکمیل کننده پژوهش‌های دیگری با تمرکز بر آثار ضد باکتریایی اسانس آویشن علیه باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی بود (۲۵). در پژوهشی دیگر با بررسی ۱۰ اسانس و ۱۰ ترکیب موثره مرتبط با اسانس‌ها علیه سه بیمارگر مهم قارچ خوراکی یعنی *T. harzianum* و *Verticillium fungicola* باکتری *P. tolaasii* مشخص گردید که مهمترین اسانس و ترکیب موثره اسانسی به ترتیب مرزنجوش (*Origanum vulgare*) و کارواکرول بودند (۴۱). اسانس‌های زیره سبز و آویشن با جلوگیری از رشد کامل قارچ *T. harzianum* نشان دادند از ظرفیت مناسبی در جلوگیری از رشد قارچ‌های سریع‌الرشد برخوردار هستند، که این نتایج با پژوهش دیگری که به مقایسه عملکرد ضد قارچی اسانس رزماری و آویشن بر روی قارچ عامل کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) پرداخته است، همخوانی داشت (۲۴). کارکرد اسانس زیره سبز و آویشن در مهار قارچ *T. harzianum* در پژوهش حاضر، بر سودمندی این دو اسانس در مهار عوامل بیمارگر قارچ خوراکی افزوده است، چرایی کارآمدی ضد میکروبی این دو اسانس را می‌توان بر اساس پژوهش‌های کوبیل و همکاران (۲۵) به وجود ترکیبات نظیر کومین آلدهید، γ -ترپینن، β -پینن و دیگر ترکیبات نظیر p-mentha-1, 4-dien-7-ol در این دو اسانس مرتبط دانست. نتایج ضد باکتری مناسب عصاره گیاه کندل بر روی *P. tolaasii* تایید

syringae pv. *Ralstonia solanacearum* phaseoli و *Pseudomonas phaseolicola* انجام شده است (۱۹). در پژوهشی که با هدف تولید لاکتوفریسین شتر در ریشه‌های مویین توتون و بررسی خاصیت ضدباکتریایی آن انجام گردید نشان داده شد بیان پپتید فوق در ریشه مویین توتون انجام می‌پذیرد (۱۶). خصوصیات ضد میکروبی پپتید فوق نشان داد، از بین شش باکتری بیماریزای گیاهی بیشترین اثر بر روی *Pectobacterium carotovorum* و کمترین اثر بر روی *Pseudomonas syringae* مشاهده گردید (۱۶). مشابه با نتایج بدست آمده در این پژوهش با تحقیقی که در زمینه پپتیدهای نوترکیب انجام پذیرفت مشخص گردید، استفاده از غلظت‌های مختلف پپتید کایمری لاکتوفرامپین-لاکتوفریسین در کنترل عامل بیماری لکه قهوه‌ای قارچ خوراکی تکمه‌ای (*P. tolaasii*) نقش بسزایی داشت (۳). با توجه به خوراکی بودن پپتید فوق برای انسان و ماندگاری بالا (مقاومت به حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد)، استفاده از آن جهت کنترل عوامل بیماریزای قارچ خوراکی به عنوان یک راهکار نوین مورد توجه قرار گرفته است (۳) در شرح مکانیزم عمل این پپتید نوترکیب نظیر سایر پپتیدهای ضد میکروبی کاتیونی این استدلال وجود دارد که به دلیل دارا بودن بار الکتریکی مثبت قابلیت اتصال و ایجاد منفذ در غشای سلول باکتری را داشته و این امر منجر به مرگ سلول می‌شود (۴۰). در مجموع با توجه به ویژگی‌های ذکر شده از اسانس‌ها، عصاره‌ها و پپتید نوترکیب کایمری می‌توان جهت کنترل و کاهش خسارت عوامل بیماریزای مهم در کشت و پرورش قارچ خوراکی تکمه‌ای از آنها به عنوان ترکیبات نوین در کنترل بیماری‌های قارچی و باکتریایی استفاده کرد که در حقیقت جایگزین مناسبی برای بکارگیری ترکیبات حاوی کلر و دیگر ترکیبات شیمیایی در سالن‌های پرورش قارچ می‌باشند. البته در انتها باید به این نکته اشاره نمود که استفاده از غلظت مناسب هر یک از ترکیبات مورد بررسی، مرحله‌ای از کشت قارچ خوراکی که استفاده از ترکیبات ضد میکروبی بیشترین اثر کنترلی را دارند و اثراتی که آنها بر کیفیت و بازارپسندی قارچ تکمه‌ای می‌گذارند، نیازمند تحقیقات بیشتر آزمایشگاهی و شرایط سالن‌های کشت و پرورش قارچ خوراکی تکمه‌ای می‌باشد.

کننده پژوهش‌های ساموئلسون و همکاران (۳۸) و تحقیقات دهقان و همکاران بود (۱۴). بر اساس مطالعات گذشته، ترکیبات کومارینی موجود در عصاره گیاه کندل مهمترین نقش را در قدرت ضد قارچی و باکتریایی این گیاه دارند (۲۸). استفاده از عصاره گیاه چویل در این پژوهش نتایج مناسبی در کنترل عوامل مهم بیماری‌زای قارچ خوراکی نشان داد که این اثر به ترکیبات ۲،۴،۵-ترترتیل بنزالدهید و α -پینن به عنوان اجزاء اصلی مواد مؤثره عصاره گیاه چویل مرتبط می‌باشد (۱۸). از دیگر راهبردهای ارزشمند در جایگزینی سموم شیمیایی، به کارگیری پتانسیل پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) می‌باشد، در همین راستا با به کارگیری پپتید کایمری نوترکیب برگرفته از شیر شتر نشان داده شد که فعالیت ضد باکتریایی این پپتید منحصر به فرد بوده و اساساً از این حیث قابل مقایسه با اسانس‌های موجود در مطالعه حاضر نیست. پپتیدهای ضد میکروبی یکی از گروه‌های متنوع ترکیبات ضد میکروبی هستند که به دلیل پیدایش مقاومت باکتری‌های پاتوژن به آنتی بیوتیک‌های رایج مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. این مولکول‌های شبه پروتئینی اغلب حاوی اسیدآمینه‌های تغییر شکل یافته و اصلاح شده ای هستند که در پلی پپتیدهای ساخته شده توسط ریبوزوم‌ها یافت نمی‌شوند (۲۳). علت این کارآمدی بی نظیر به اجزای ضد میکروبی این پپتید کایمری یعنی پپتیدهای لاکتوفریسین (Lactoferricin) و لاکتوفرامپین (Lactoferrampin) که قبلاً بر روی عوامل بیماریزای مختلف ثابت شده است بر می‌گردد (۱۵، ۱۶، ۲۶، ۴۰). نتایج یک پژوهش میزان سمیت پپتید کایمری Cecropin-Melittin برای یوکاریوت‌ها را مشخص نمود و نشان داد این پپتید در غلظت ۴۸ میلی‌گرم بر لیتر حدود ۵۰٪ گلبول‌های قرمز را نابود کرد و در غلظت ۱۲ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۲۴ ساعت حدود ۴۵٪ سلول‌های CHO و ۲۲٪ از سلول‌های هلا را از بین برد. در واقع این غلظت‌ها از غلظت مؤثر بر پروکاریوت‌ها بیشتر بود. نتایج پژوهش فوق نشان داد اولین گام در بررسی و سنجش آزمایشگاهی پپتید CM11 به عنوان آنتی‌بیوتیک جدید مؤثر بود و این ترکیبات در غلظت‌های کم، بسیار کارآمد هستند (۶). بررسی فعالیت ضد میکروبی لاکتوفریسین بر علیه باکترهای بیمارگر گیاهی تاکنون تنها در مورد اثر ضد میکروبی لاکتوفریسین شیر گاو بر ضد *Xanthomonas campestris* pv.

منابع

- 1- Ali G.S., and Reddy A. 2000. Inhibition of fungal and bacterial plant pathogens by synthetic peptides: in vitro growth inhibition, interaction between peptides and inhibition of disease progression. *Molecular Plant-microbe Interactions*, 13(8): 847-859.
- 2- Akhlaghi M., Tarighi S., Farsi M., and Taheri P. 2015. Identification and investigation of some virulence factors of *Pseudomonas tolaasii* isolated from mushroom in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 51(4): 399-412. (In Persian)
- 3- Akhlaghi M., Tanhaiyan A., Shahriari F., and Tarighi S. 2016. Evaluating the Antibacterial Effect of the Lactoferrin-lactoferricin Chimeric Protein Obtained from the Domestic Livestock's Milk on Pathogenic Bacteria of

- Pseudomonas tolaasii*. Proceedings of 22nd Iranian Plant Protection Congress, 27- 30 August, 2016. (In Persian with English abstract)
- 4- Amini J., Farhang V., Javadi T., and Nazemi J. 2016. Antifungal effect of plant essential oils on controlling *Phytophthora* species. *Plant Pathology Journal*, 32(1): 16. (In Persian with English abstract)
- 5- Andersson H., Tago D., and Treich N. 2014. Pesticides and health: A review of evidence on health effects, valuation of risks, and benefit-cost analysis. *Preference Measurement in Health*, 1-61.
- 6- Azizi Bargini K. 2013. Evaluation of antimicrobial activity of Cecropin-Melittin Cimmer peptide alone and with common antibiotics against common bacterial infections in hospitals. MC thesis degree, University of Mohaghegh Ardabili, 2013.
- 7- Bradshaw J.P. 2003. Cationic antimicrobial peptides. *Bio Drugs*, 17(4): 233-240.
- 8- Bruni N., Capucchio M.T., Biasibetti E., Pessione E., Cirrincione S., Giraudo L., Corona A., and Dosio F. 2016. Antimicrobial activity of Lactoferrin-related peptides and applications in human and veterinary medicine. *Molecules* 21(6): 752.
- 9- Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically: Approved Standard 8th Edition; CLSI Document M07-A8; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2009.
- 10- Charles D.J., and Simon J.E. 1990. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115: 458-462.
- 11- Damalas C.A., and Eleftherohorinos I.G. 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(5): 1402-1419.
- 12- Datta A., Bhattacharyya D., Singh S., Ghosh A., Schmidtchen A., and Malmsten M. 2016. Role of aromatic amino acids in lipopolysaccharide and membrane interactions of antimicrobial peptides for use in plant disease control. *Journal of Biological Chemistry*, 291(25): 13301-17.
- 13- Dayan F.E., Cantrell C.L., and Duke S.O. 2009. Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17(12): 4022-34.
- 14- Dehghan G.R., Zarini G.R., and Hajizadeh M. 2013. Phytochemical investigation and antimicrobial, antifungal and synergistic activities of chloroform fractions of the root of *Ferula szovitsiana*. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*, 15(6): 10-17. (In Persian with English abstract)
- 15- Embleton N.D., Berrington J.E., McGuire W., Stewart C.J., and Cummings S.P. 2013. Lactoferrin: Antimicrobial activity and therapeutic potential. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 18(3): 143-9.
- 16- Eslahi N., Niazi A., Aram F., Afsharifar A., and Taghavi S.M. 2015. Overexpression of Camel lactoferricin recombinant peptide in tobacco hairy roots and study of its antimicrobial activity. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 51(4): 431-444.
- 17- Farag R., Daw Z., Hewedi F., and El-Baroty G. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52(9): 665-7.
- 18- Fayaz F., Rahmati Roodsari S., Gachkar L., Pourkaveh B., and Ghasemian Safaei H. 2016. The Antimicrobial activity of *Ferula gummosa* on bacterial strains isolated from patients with gastroenteritis. *Iranian Journal of Clinical Infectious Diseases*, 6: 20-4. (In Persian with English abstract)
- 19- Fukuta S., Kawamoto K.I., Mizukami Y., Yoshimura Y., Ueda J.I., and Kanbe M. 2012. Transgenic tobacco plants expressing antimicrobial peptide bovine lactoferricin show enhanced resistance to phytopathogens. *Plant Biotechnology*, 29: 383-389.
- 20- García-Montoya I.A., Cendón T.S., Arévalo-Gallegos S., and Rascón-Cruz Q. 2012. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. *Biochemical et Biophysical Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(3): 226-36.
- 21- Gea F.J., Navarro M.J., and Tello J.C. 2005. Reduced sensitivity of the mushroom pathogen *Verticillium fungicola* to prochloraz-manganese in vitro. *Mycological Research*, 109(6): 741-5.
- 22- Gurjar M.S., Ali S., Akhtar M., and Singh K.S. 2012. Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Science*, 3(3): 425.
- 23- Hamidi M., Mousavi Nasab S.D., Ahmadi N., Basati G.h., Aolad G.R., Salimian J., and Zargar M. 2013. Synthesis of antimicrobial peptides in bacteria. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 20(4).
- 24- Hassani A., Jalili Marndi R., and Qusta Y. 2010. Use of essential oils for controlling mildew (*Botrytis cinerea*) disease Pear fruit. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 40-1(85-94). (In Persian with English abstract)
- 25- Iacobellis N.S., Lo Cantore P., Capasso F., and Senatore F. 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1): 57-61.
- 26- Iglesias-Figueroa B., Valdiviezo-Godina N., Siqueiros-Cendón T., Sinagawa-García S., Arévalo-Gallegos S., and Rascón-Cruz Q. 2016. High-level expression of recombinant bovine lactoferrin in *Pichia pastoris* with antimicrobial activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6): 902.
- 27- Kakon A., Choudhury M.B.K., and Saha S. 2012. Mushroom is an ideal food supplement. *Journal of Dhaka National Medical College & Hospital*, 18(1): 58-62.

- 28- Kumar R., Saha A., and Saha D. 2012. A new antifungal coumarin from *Clausena excavata* Fitoterapia, 83(1): 230-3.
- 29- Li Y. 2011. Recombinant production of antimicrobial peptides in *Escherichia coli*: a review. Protein Expression and Purification, 80(2): 260-7.
- 30- Lopez P., Sanchez C., Batlle R., and Nerin C. 2005 . Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(17): 6939-46.
- 31- Mattila P., Suonpää K., and Piironen V. 2000. Functional properties of edible mushrooms. Nutrition, 16(7-8): 694-6.
- 32- Mzida M., Ben Khedira S., Ben Salemb M., Regaiegb W., and Rebaia T. 2016. Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol and aqueous extracts from *Urtica urens*. Pharmaceutical Biology, 55(1): 775-781.
- 33- Mosch J., Zeller W., Rieck M., Ullrich W., and Bonn W.G. Further studies on plant extracts with a resistance induction effect against *Erwinia amylovora*. International workshop on fire blight, Acta hort, 411: 361 - 6.
- 34- Plodpai P., Chuenchitt S., Petcharat V., Chakthong S., and Voravuthikunchai S.P. 2013. Anti-*Rhizoctonia solani* activity by *Desmos chinensis* extracts and its mechanism of action. Crop Prot. 43: 65-71.
- 35- Potočník I., Vukojević J., Stajić M., Rekanović E., Milijašević S., and Stepanović M. 2009. Toxicity of fungicides with different modes of action to *Cladobotryum dendroides* and *Agaricus bisporus*. Journal of Environmental Science and Health Part B., 44(8): 823-7.
- 36- Sadeghi M., and Hojati Z. 2016. Evaluation of anticancer peptide VEGF111b secretion in HEK293 human Cells. Feyz Journal of Kashan University of Medical Sciences, 21(1): 28-34
- 37- Sadler M. 2003. Nutritional properties of edible fungi. Nutrition Bulletin, 28(3): 305-308.
- 38- Samuelsen A.B. 2007. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology, 71(1): 1-21.
- 39- Singh G., Kapoor I., Pandey S., Singh U., and Singh R. 2002. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. Phytotherapy Research, 16(7): 680-2.
- 40- Sinha M., Kaushik S., Kaur P., Sharma S., and Singh T.P. 2013. Antimicrobial Lactoferrin peptides: The hidden players in the protective function of a multifunctional protein. International Journal of Peptides, 2013: 12.
- 41- Sokovic M., and Van Griensven L. 2006. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. European Journal of Plant Pathology, 116: 211-224.
- 42- Wang W.Y., Wong J.H., Ip D.T.M., Wan D.C.C., Cheung R.C., and Ng T.B. 2016. Bovine Lactoferrampin, Human Lactoferricin, and Lactoferrin 1-11 Inhibit Nuclear Translocation of HIV Integrase. Applied Biochemistry and Biotechnology, 179(7): 1202-12.



Comparison of Antimicrobial Activity of Essential Oils and Plant Extracts with Recombinant Peptide in Controlling of Some Pathogens of Cultivated White Button Mushrooms

F. Shariari^{1*}- A. Tanhaeian²- M. Akhlaghi³- N. Nazifi⁴

Received: 25-04-2018

Accepted: 18-11-2018

Introduction: The most serious diseases of cultivated mushrooms are caused by *Pseudomonas tolaasii* and *Trichoderma harzianum* pathogens. A common method of pathogen control on farms worldwide is the application of various chemical pesticides. Many of these substances are unsafe for human and environment. The interest in discovering and developing natural antimicrobials has significantly increased due to consumer preferences for foods that are free of chemical residues. So, a major challenge for mushroom growers is to control diseases with alternative compounds such as essential oils and plant extracts. Antimicrobial peptides (AMPs) were also known as potential antibiotic and considered as a new antimicrobial agents. In the present study, the antibacterial and antifungal potential of essential oils, plant extracts and a recombinant peptide were investigated for their pathogenicity. For this purpose, the essential oils of *Cuminum cyminum* and *Zataria multiflora* and the plant extracts of *Dorema ammoniacum* and *Ferulago angulata* and a recombinant peptide were evaluated for their antimicrobial and antifungal effects on the *P. tolaasii* and *T. harzianum* pathogens.

Materials and Methods: In this study, essential oils of *C. cyminum* and *Z. multiflora* were extracted by hydrodistillation in a Clevenger-type apparatus. The plant extracts (*D. ammoniacum* and *F. angulata*) were prepared using maceration method. Recombinant peptides (Lactoferricin-Lactoferrampin) were produced from Adherent Human Embryonic Kidney 293 (HEK293). The antifungal properties of essential oils, plant extract and AMPs were studied on growth inhibition. Antibacterial activity of substances was tested against *P. tolaasii* via disk-diffusion method respectively. Minimum inhibitory concentration (MIC), Minimum bactericidal concentration (MBC) and Minimum fungicidal concentration (MFC) to the compounds were studied. All treatments were considered in a completely randomized block design with three replicates.

Results: The results of the antibacterial evaluations showed that the *Chimera peptide* have remarkable activity against pathogenic bacteria with a mean diameter of the zone inhibition region of 32.2mm, followed by *C. cyminum* and *D. ammoniacum* extracts with mean values of 7 and 6 mm respectively. Regarding to antifungal activity of substances isolated from above material, it was found that essential oils of *C. cyminum* and *Z. multiflora* completely prevent the growth of *T. harzianum*, followed by *D. ammoniacum* and *F. angulata* with mean values of 26 and 60.6 mm respectively. The lowest antifungal activity was observed for chimera peptide.

Discussion: The cultivated button mushroom is one of the most extensively cultivated mushroom in the world. The most serious diseases of cultivated mushrooms are caused by *P. tolaasii* and *T. harzianum* pathogens. The results of our study showed that the *C. cyminum* and *D. ammoniacum* have remarkable activity against pathogenic bacteria. Plant extracts, essential oils and their components have demonstrated strong fungistatic and antibacterial effects against pathogenic fungi and bacteria on cultivated mushrooms. Modes of action of essential oils in their interaction with bacteria have been quite revealed. It has been assumed that Thymol changes the permeability of cytoplasmic membrane of Gram-positive bacteria, acting as a proton exchanger, decreasing the pH gradient and causing a collapse of the proton motive force and eventually cell death. Regarding to antifungal activity, our results also showed that essential oils of *C.*

1 and 2- Professor and Ph.D. Graduate, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

3- Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Ph.D. Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

cyminum and *Z. multiflora* completely prevent the growth of *T. harzianum*, followed by *D. ammoniacum* and *F. angulate*. One of the possible action mechanisms proposed that fungal growth may be reduced or totally inhibited due to monoterpenes present in essential oils which could increase the concentration of lipidic peroxides such as hydroxyl, alkoxyl and alkoperoxyl radicals and so bring about cell death. According to another mechanism, the essential oils would act on the hyphae of the mycelium, provoking exit of components from the cytoplasm, the loss of rigidity and integrity of the hypha cell wall, resulting in its collapse and death of the mycelium. In our study, a camel recombinant chimeric lactoferricin + lactoferrampin peptide was also tested for its antimicrobial activity. Our result showed that this recombinant peptide have remarkable activity against pathogenic bacteria. The details of the antibacterial mechanism for this recombinant peptide still are unknown. However, amino acid profile, sequence orientation and structural conformation of cationic peptides are the main features which make these peptides capable to inhibit bacterial growth by disrupting of the bacterial cell membrane. As general results it can be concluded that natural plant-derived antimicrobial as well as recombinant peptides can be used as alternatives to synthetic pesticides, however, further studies on safety and toxicity of these substances should be carried out before use.

Conclusion: In summary, this study shows that essential oils and plant extracts isolated from above plant material have remarkable antifungal activities against *T. harzianum*, while the chimera peptide showed complete inhibition against *P. tolaasii*. Thus all of this substance could become alternative to synthetic antimicrobial compounds for control of mushroom pathogens. However, further studies on safety and toxicity of these substances should be carried out before use.

Keywords: Antibacterial effect, Antifungal effect, Antimicrobial peptides, *Pseudomonas tolaasii*, *Trichoderma harzianum*



تأثیر تنش مکانیکی بر برخی از خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حسن یوسف (*Coleus blumei* Benth.)

عاطفه صفایی فر^۱ - عبدالحسین رضایی نژاد^{۲*} - صادق موسوی فرد^۳ - فیض الله شهبازی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۲

چکیده

پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر تنش لرزشی بر کنترل رشد گیاه حسن یوسف انجام شد. آزمایش به صورت گلدانی و بر اساس فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. اعمال تنش پس از استقرار قلمه‌های ریشه‌دار شده، هر روز صبح بعد از طلوع خورشید در سه زمان صفر (شاهد)، پنج و ۱۰ دقیقه و قدرت تنش در سه فرکانس ۷/۵ و ۱۰ و ۱۲/۵ هرتز توسط دستگاه شبیه‌ساز لرزش انجام شد. نتایج نشان داد کلیه تیمارهای تنش لرزشی در تمامی قدرت‌ها و زمان‌های اعمال شده باعث کاهش ارتفاع گیاه شد. با افزایش قدرت و مدت تنش، ارتفاع گیاه کاهش بیشتری نشان داد به طوری که در گیاهان تحت تنش لرزشی با قدرت ۱۲/۵ هرتز و مدت زمان ۱۰ دقیقه نسبت به شاهد ۳۱ درصد کاهش ارتفاع نشان دادند. اعمال تنش لرزشی باعث کاهش تعداد و سطح برگ، طول ریشه، بیوماس گیاه و محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد شد، اما تأثیری در نشت یونی نداشت. در بین تیمارها، گیاهانی که با قدرت ۷/۵ هرتز و به مدت پنج دقیقه تحت تنش لرزشی بودند، ۱۶ درصد کاهش ارتفاع نسبت به شاهد نشان دادند اما سایر خصوصیات رشدی مانند قطر ساقه، سطح برگ، نشت یونی و مالون‌دی‌الدئید و کلروفیل شرایط مشابه با گیاهان شاهد داشتند. با این حال برحسب شرایط تولید امکان انتخاب سایر شدت‌ها و مدت‌های تنش وجود دارد. بطور کلی بررسی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد امکان استفاده از تنش‌های مکانیکی کنترل شده برای تولید گیاهان گلدانی کوتاه و پر پشت بدون استفاده از مواد شیمیایی وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش لرزشی، حسن یوسف، کاهش ارتفاع، کنترل رشد

مقدمه

روی گل میخک گلدانی^۲ استفاده خاک کاربرد پاکلوبوترازول باعث کاهش رشد و ارتفاع گیاه شد (۴). نتایج آزمایش دیگری بر روی زنبق سیاه^۳ نشان داد که استفاده از پاکلوبوترازول و کلرومکوات کلراید باعث کاهش ارتفاع ساقه گل‌دهنده شده که برای گیاهان گلدانی مناسب می‌باشد (۱). در گیاهان گلدانی استفاده از کندکننده‌های رشد شیمیایی یک روش امتحان شده در کنترل طول ساقه است که برای متراکم کردن گیاه به کار می‌رود. اسپری موادی مثل دامینوزاید، کلرومکوات کلراید یا پاکلوبوترازول باعث کاهش ارتفاع گیاهان می‌شود اما نیاز به استفاده مکرر از این مواد باعث افزایش هزینه تولید و افزایش آلودگی‌های محیطی می‌شود. بنابراین تولید گیاهانی با ارتفاع کمتر که هزینه تولید کمتر و دوست محیط زیست باشد ضروری به نظر می‌رسد (۳۲). لذا محققین به دنبال راه‌های مختلف کاهش ارتفاع گیاهان هستند. در آزمایشی بر روی گل حنا^۴ بوسیله اعمال کنترل شده خشکی، ارتفاع گیاهان ۶۸ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد

گیاه زینتی حسن یوسف (*Coleus blumei* Benth.) از خانواده Laminaceae، گیاهی علفی، پر رشد، دارای برگ‌های زینتی رنگی که با زیبایی و تنوع ویژه‌اش، آن را از هر گیاه دیگری متمایز می‌سازد (۲۷). ساقه‌ی گیاهان این جنس در برش سطح مقطع به شکل چهارگوش، برگ‌ها متقابل با طول ۲/۵ تا ۱۰ سانتی‌متر، مضرس، دم‌برگ‌دار یا بدون دم‌برگ است (۳۴). از این گیاه عمدتاً به صورت گلدانی و آپارتمانی استفاده می‌شود.

تولید گیاهان آپارتمانی کوتاه و پر پشت در گلدان دارای ارزش تجاری می‌باشد. استفاده از مواد شیمیایی و کندکننده‌های رشد یکی از روش‌های معمول در کاهش ارتفاع گیاهان می‌باشد. در آزمایشی بر

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

(*) نویسنده مسئول: (Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)

۴- دانشیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.72467

2- *Dianthus caryophyllus*

3- *Iris chrysographes*

4- *Impatiens walleriana*

به گیاهان شاهد شد (۱۹).

علاوه بر بررسی اثر تنش مکانیکی بر کنترل رشد گونه‌های مختلف سبزیجات، در گروهی دیگر از پژوهش‌ها اثر تنش مکانیکی بر گیاهان گلدار و زینتی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. اوتیو و همکاران (۱۹۹۴) نشان دادند که اعمال تنش تماسی باعث کاهش وزن تر و خشک بوته در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد در گل میناچینی^۵ و کاهش ارتفاع بوته، طول ساقه و طول ساقه گل‌دهنده در گل اطلسی^۶ نسبت به گیاهان شاهد شد (۳). ژارنر و لانگتون (۱۹۹۷) متوجه شدند که طول دم‌برگ و وزن خشک بنفشه^۷ در اثر تنش مکانیکی کاهش یافت (۱۸). همچنین تنش تماسی از نوع برس‌کشی بر روی بنفشه آفریقایی^۸ باعث کاهش رشد گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد شد (۱۲). در پژوهش حاضر با استفاده از دستگاه شبیه‌ساز لرزش، کنترل رشد و پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حسن‌یوسف در شدت و مدت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی گیاه حسن‌یوسف در طی بهار سال ۱۳۹۶ در گلخانه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان با میانگین دمای روزانه گلخانه ۲۸-۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۷۰-۶۰ درصد و نور ۶۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه انجام گرفت. در این پژوهش ابتدا گیاه مورد نظر از طریق قلمه از گیاه مادری تکثیر، سپس قلمه‌های دارای ۳-۲ جوانه و دارای ۲ برگ به‌طور مستقیم در گلدان‌های حاوی یک قسمت خاک، یک قسمت ماسه و یک قسمت کود حیوانی پوسیده کشت شدند. پس از ریشه‌دار شدن و استقرار گیاه در خاک که حدود یک هفته طول کشید، اعمال تیمارها روزی یکبار (صبح بعد از طلوع خورشید) شروع شد. پس از استقرار کامل گیاهان، تنش لرزشی توسط دستگاه لرزاننده موجود در گلخانه دانشکده بر روی گیاهان اعمال شد. برای شبیه‌سازی ارتعاشات بر روی گل‌ها، دستگاه شبیه‌ساز ارتعاشات در شرایط آزمایشگاه طراحی و ساخته شد. شکل ۱، شماتیک و تصویر این دستگاه را در حال انجام کار نشان می‌دهد. با توجه به شکل، مشاهده می‌شود که این دستگاه شامل یک میز ارتعاشی است که به آن دو عدد چرخ‌دنده وصل شده است و این چرخ‌دنده‌ها توسط یک موتور الکتریکی دور متغیر، در خلاف جهت هم می‌چرخند. بر روی محور چرخ‌دنده‌ها دو عدد وزنه به‌صورت خارج از مرکز قرار گرفته است که وزن و میزان خارج از مرکزی آن‌ها قابل تنظیم است. میز ارتعاشی بر روی دو تیرک افقی قرار گرفته است.

(۱۴). در آزمایش دیگری با کاهش میزان آبیاری ارتفاع گیاه میخک گلدانی کاهش یافت (۲). یکی دیگر از روش‌های کاهش ارتفاع گیاهان استفاده از کیفیت نور است، در آزمایشی بر روی دانه‌های گوجه‌فرنگی^۱ با تاباندن نور کنترل شده در پایان روز ارتفاع ساقه گیاه کنترل شد، به‌نحوی که با تابش نور قرمز به مادون قرمز بالا کوتاه شدن ساقه گیاهان و با تابش نور قرمز به مادون قرمز پایین افزایش ارتفاع ساقه گیاهان دیده شد (۱۵). استفاده از نور قرمز بیشتر نسبت به نور مادون قرمز باعث کاهش ارتفاع ساقه در گیاهان داوودی گلدانی^۲ نسبت به شاهد شد (۹). استفاده از ترکیبات کودی و مواد غذایی در گیاهان نیز با تأثیر بر روی رشد رویشی می‌تواند باعث افزایش یا کاهش ارتفاع ساقه گیاهان شود، در آزمایشی بر روی گل ادریسی^۳ یک ترکیب از غلظت مناسب از کود نیتروژن در طول دوره رویشی تا تولید و اسپری اوره تا قبل از ریزش برگ‌ها می‌تواند یک مدیریت مناسب در کنترل رشد رویشی بیش از اندازه باشد. افزایش ذخیره نیتروژن، مقدار نیتروژن مصرفی را کاهش می‌دهد و گلدهی گل‌های ادریس را بهینه می‌سازد (۶).

همچنین یکی از مشکلات پیش روی تولیدکنندگان گل و گیاه، رشد بیش از اندازه و متفاوت گیاهچه‌ها در زمان انتقال است. کنترل رشد در گیاهان پرورش یافته در هوای آزاد بوسیله مواد شیمیایی تنظیم‌کننده رشد یک روش معمول است اما استفاده از این مواد گران، سخت و بسیار محدود است. بنابراین معقول است که جهت کنترل ارتفاع گیاه به‌روش‌های غیر شیمیایی، بتوان به‌آسانی برای استفاده تجاری آن‌ها را سازگار کرد (۱۸). اختلالات مکانیکی یا تنش مکانیکی باعث پاسخ‌های مورفولوژیکی متفاوتی در گونه‌های گیاهی می‌شود. فنوتیپ خاص ایجاد شده توسط این گونه از تنش‌ها باعث کوتاه شدن و کمپکت شدن بیشتر گیاهان نسبت به گیاهانی است که تنش مکانیکی ندیده‌اند. این تأثیر بر روی ارتفاع می‌تواند باعث یکدست شدن گیاهان بارده شود (۱۹). استفاده از تنش‌های مکانیکی مانند تنش‌های لمسی، تکانی، لرزشی و... جهت کاهش ارتفاع و پرپشت کردن گیاهان گلدانی می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر و کم‌هزینه ارزیابی شود. در آزمایشی برس‌کشی نشای خیار^۴ ۱۰ بار در هر روز و به‌مدت چهار روز باعث کاهش ۲۵ درصد ارتفاع نهایی طول هیپوکوتیل در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد شد (۱۰). در آزمایش دیگری، تنش مکانیکی از نوع مالشی بوسیله یک اسفنج بر روی میانگره گیاه فلفل اعمال شد؛ این تنش باعث کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ، کاهش تعداد گل، کاهش وزن تر و خشک ریشه و ساقه و همچنین کاهش تعداد میوه، حجم میوه و وزن تر میوه نسبت

5- *Callistephus chinensis* L.

6- *Petunia* spp.

7- *Viola tricolor* L.

8- *Saintpaulia ionantha* H. Wendl.

1- *Solanum lycopersicum*

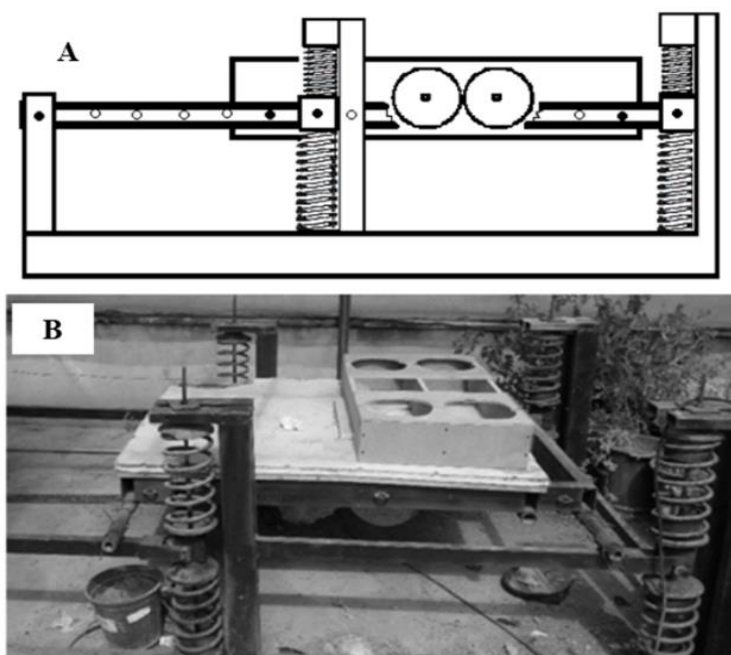
2- *Chrysanthemum indicum*

3- *Hydrangea macrophylla*

4- *Cucumis sativus* L.

تغییر می کند و میز به ارتعاش درمی آید. فرکانس دستگاه برحسب هرتز، از تقسیم تعداد دور چرخ دنده ها برحسب rpm که توسط اینورتر اندازه گیری می شود بر زمان ۶۰ ثانیه، به دست می آید. برای تنظیم شتاب دستگاه در اندازه مورد نظر از تغییرات اندازه وزنه ها، خارج از مرکزی وزنه ها و تغییر موقعیت عرضی قرارگیری میز بر روی تیرک های افقی استفاده می شود.

بهار خواب ها توسط یک پیکربندی فنری نگهداری می شوند. یکسر تیرک ها از بالا و پایین به دو فنر (فنرهای بالایی و پایینی) و سر دیگر آن ها به صورت لولایی به تیرک های عمودی وصل شده است. به موتور الکتریکی یک دستگاه اینورتر، وصل شده است که با استفاده از آن دور موتور تغییر می کند و در اندازه مورد نظر تنظیم می شود. با تغییر دور موتور، دور چرخ دنده ها و در نتیجه سرعت زاویه ای وزنه ها



شکل ۱- دستگاه شبیه ساز لرزش. شماتیک (A) و در حال انجام کار (B)
Figure 1- Vibration simulation. Schematic (A) and functioning (B) of

اساس سانی متر گزارش گردید. با توجه به چهار گوش بودن ساقه گیاهان خانواده نعنائیان، قطر ساقه به صورت مضربی از طول سطح مقطع ساقه در عرض آن که توسط دستگاه کولیس اندازه گیری شد، محاسبه شد. برای تجزیه آماری از نرم افزارهای Excel و Minitab استفاده شد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون PLSD در سطح احتمال پنج درصد انجام و نمودارها با نرم افزار Prism 5 رسم گردید.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، تنش مکانیکی از نوع لرزشی بر رشد و ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی حسن یوسف موثر بود (جدول ۱)، به طوری که با افزایش مدت و شدت اعمال تنش لرزشی، کاهش معنی داری در ویژگی های رشدی به ویژه ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته، سطح برگ، تعداد و طول شاخه جانبی، حجم و طول ریشه مشاهده شد.

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل مدت و

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمار مدت زمان اعمال تنش در سه زمان صفر (شاهد)، پنج و ۱۰ دقیقه و تیمار شدت اعمال تنش در سه سطح ۷/۵، ۱۰ و ۱۲/۵ هرتز بر روی گیاهان اعمال شد. پس از استقرار کامل گیاهان تیمارها به مدت چهار هفته اعمال شد. اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ طبق روش یاماساکی و دیلنبورگ (۴۱) انجام و غلظت مالون دی آلدئید طبق روش باگ و آست (۱۳) اندازه گیری شد. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیختن تالر (۳۰) با استفاده از بافت تر برگ و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر^۱ مدل ماپادا^۲ انجام شد. برای اندازه گیری سطح برگ گیاه، تمامی برگ های بوته را از گیاه جدا کرده و توسط دستگاه سطح برگ سنج^۳ اندازه گیری شد. طول ساقه و ریشه با استفاده از خط کش اندازه گیری و واحد آن بر

1- Spectrophotometer

2- Mapada, China

3- Leaf area meter (Delta-Tscan), England

شدت تنش بر ارتفاع گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که با افزایش قدرت و مدت اعمال تنش لرزشی، ارتفاع گیاه کاهش بیشتر نشان داد به‌طوری که در گیاهان تحت تیمار تنش لرزشی با قدرت ۱۲/۵ هرتز و مدت زمان ۱۰ دقیقه نسبت به شاهد ۳۱ درصد کاهش ارتفاع نشان دادند (جدول ۲). در پژوهش‌های مشابه نیز نتایج مشابهی از تاثیر تنش مکانیکی بر کاهش ارتفاع گیاهان بدست آمده است. اعمال تنش تماسی بر روی گیاه نخود^۱ باعث کاهش رشد طولی نخود شد (۳۳)، همچنین تنش مکانیکی در برنج^۲، ذرت^۳ و جو^۴ باعث کاهش ارتفاع گیاهان نسبت به شاهد شد (۳۸). تنش‌های مکانیکی با کاهش حرکت قطبی اکسین باعث کاهش ارتفاع بوته می‌شود (۱۷). آزمایشات مختلف نشان دادند زمانی که یک دوره تنش تماسی اعمال می‌شود، انتقال اکسین نشاندار از طریق اپی کوتیل قطع شده نخود به میزان ۴۰ تا ۵۰ درصد در مدت ۲۴ ساعت کاهش می‌یابد که این میزان رشد طولی را متوقف می‌کند (۳۳). سیتوکنین به عنوان محرک تقسیم سلولی، محرک افزایش سطح برگ و کند کننده پیری برگ‌ها شناخته شده است. مقدار سیتوکنین-های فعال در ترشحات گیاه آفتابگردان^۵ سربرداری شده در پاسخ به تنش‌های مکانیکی کاهش پیدا کرد؛ از طرف دیگر گزارش شده است که اتیلن توسعه سلول‌های جانبی را القا نموده که رشد طولی را محدود می‌کند، مطالعات نشان داده است که کاربرد خارجی اتیلن بعضی از اثرات ریخت‌شناسی تنش‌های مکانیکی را به انضمام اپی‌ناستی برگ و کاهش طولیل شدن ساقه در بسیاری از گونه‌های گیاهی شبیه‌سازی خواهد کرد (۵). ظهور اتیلن ناشی از تنش مسلماً از افزایش ساخت پیش‌ماده اتیلن یعنی ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیل اسید ناشی می‌شود و ساخت ACC از طریق آنزیم ACC سنتتاز تنظیم می‌شود. بنابراین ظهور اتیلن ناشی از تنش مکانیکی باید در تحریک فعالیت آنزیم ACC سنتتاز دخالت داشته باشد (۲۴). اثر اصلی مدت زمان و شدت تنش بر قطر ساقه در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل آنها معنی‌دار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که با افزایش مدت زمان اعمال تنش، قطر ساقه کاهش یافت. تاثیر تنش در شدت‌های ۷/۵ و ۱۰ هرتز یکسان بود ولی در شدت ۱۲/۵ هرتز، قطر ساقه کاهش بیشتری نشان داد. محرک‌های مکانیکی و تماسی هر دو طول ساقه را کاهش داده و نسبت قطر ساقه به طول را افزایش می‌دهند، اما ضخیم شدن ساقه‌ها فقط در پاسخ به تنش‌های تماسی اتفاق می‌افتد (۲۱). در تعداد دیگری از پژوهش‌ها هم نشان داده شد که در گیاهان

- 1- *Pisum sativum*
- 2- *Oryza sativa*
- 3- *Zea mays*
- 4- *Hordeum vulgar*
- 5- *Helianthus annuus*

تحت تنش مکانیکی قطر ساقه در مقایسه با گیاهان شاهد معمولاً یا بدون تغییر مانده و یا کاهش می‌یابد (۲۰، ۲۱، ۲۳ و ۲۹). اثر متقابل مدت و شدت تنش بر تعداد و طول شاخه‌های جانبی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). کمترین تعداد شاخه‌های جانبی در گیاهانی که به مدت پنج دقیقه و با فرکانس ۷/۵ هرتز تنش دیدند، مشاهده شد. همچنین اعمال تنش مکانیکی با شدت ۱۰ هرتز باعث کاهش تعداد شاخه‌های جانبی شد در حالی‌که کاربرد فرکانس ۱۲/۵ هرتز تنش لرزشی اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد (جدول ۲). کلیه تیمارهای تنش لرزشی در تمام قدرت‌ها و زمان‌های اعمال شده باعث کاهش طول شاخه جانبی در گیاهان شد. افزایش شدت تنش در مدت زمان ۱۰ دقیقه باعث کاهش بیشتر طول شاخه‌های جانبی شد و کمترین طول شاخه‌های جانبی در گیاهانی که به مدت ۱۰ دقیقه و با شدت ۱۲/۵ هرتز تحت تیمار تنش لرزشی بودند دیده شد (جدول ۲).

در خصوص تعداد و سطح برگ تنها اثر اصلی مدت تنش در سطح یک درصد معنی‌دار شد و اثر اصلی شدت تنش و اثر متقابل مدت و شدت تنش معنی‌دار نشد (جدول ۱). اعمال تنش لرزشی باعث کاهش تعداد و سطح برگ شده و زمان‌های ۵ و ۱۰ دقیقه اثر یکسانی داشتند (جدول ۲). وانگ و همکاران (۴۰) نیز نتایج مشابهی از کاهش تعداد برگ در بوته در اثر تنش مکانیکی بر روی دانه‌های ماش معطر^۶ نشان دادند. با افزایش مدت زمان اعمال تنش لرزشی، سطح برگ در بوته و میانگین سطح برگ نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد اما افزایش شدت اعمال تنش تأثیری بر کاهش این دو صفت نداشت (جدول ۲). گارنر و همکاران (۱۸) هم نشان دادند که تنش مکانیکی از نوع برس کشی باعث کاهش سطح برگ در بنفشه نسبت به گیاهان شاهد شد. همچنین تنش مکانیکی از نوع تماسی باعث کاهش سطح برگ در گیاهچه‌های فلفل^۷ شد (۱۹).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر مدت زمان اعمال تنش لرزشی بر طول ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر اصلی شدت و همچنین اثر متقابل مدت و شدت تنش معنی‌دار نشد. با اعمال تنش، طول ریشه کاهش یافته ولی مدت زمان ۵ و ۱۰ دقیقه تأثیر یکسانی داشتند. از طرف دیگر اثر متقابل مدت و شدت تنش بر حجم ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار شد و افزایش سطوح دو فاکتور مدت زمان و شدت تنش در تمامی تیمارها باعث کاهش حجم ریشه شد (جدول ۲).

6- *Hedysarum leave*
7- *Capsicum annum*

جدول ۱ - تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شدت و مدت تنش مکانیکی بر ویژگی های اندازه گیری شده در حسن یوسف
 Table 1- ANOVA of the effects of frequency and duration of mechanical stress on selected characteristics of *Coleus blumei*

میانگین مربعات MS												
منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter	طول شاخه های جانبی Length of axillary shoots	تعداد شاخه های جانبی No. of axillary shoots	تعداد برگ در بوته No. of leaves/plant	مساحت برگ Leaf area	میانگین مساحت برگ Mean Leaf area	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	وزن ترساقه Stem FW	وزن خشک ساقه Stem DW
مدت تنش Duration of stress (A)	2	123.62**	70**	1541.01**	13.48**	369.33**	793935**	170.57**	122.23**	712.48**	142.66**	0.201**
شدت تنش Frequency of stress (B)	2	14.06**	34.35**	136.04**	1.03 ^{ns}	10.11 ^{ns}	11203 ^{ns}	4.6 ^{ns}	7.509 ^{ns}	17.81**	17.54**	0.0035 ^{ns}
اثر متقابل A × B	4	2.85**	7.53 ^{ns}	107.94**	2.37**	52.78 ^{ns}	43335 ^{ns}	12.54 ^{ns}	7.55 ^{ns}	11.92**	21.123**	0.011 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	18	0.46	3.723	7.56	0.33	22.7	16228	8.59	8.009	0.926	1.69	0.0064
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		2.68	4.3	5.96	5.99	8.24	11.28	6.12	10.71	5.33	10.86	13.33

ادامه جدول (۱) - Table 1-continued												
میانگین مربعات MS												
منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	وزن تر برگ Leaf FW	وزن خشک برگ Leaf DW	وزن تر ریشه Root FW	وزن خشک ریشه Root DW	محتوای نسبی آب RWC	نشت یونی Electrolyte leakage	مالون دی الید MDA	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total Chl	کاروتنئید Carotenoids
مدت تنش Duration of stress (A)	2	162.86**	0.828**	148.29**	0.298**	99.068**	2.5 ^{ns}	0.532*	1.42**	0.19 ^{ns}	2.7**	0.15**
شدت تنش Frequency of stress (B)	2	1.06 ^{ns}	0.0005 ^{ns}	4.85**	0.0069 ^{ns}	3.02 ^{ns}	2.14 ^{ns}	0.351*	3.1**	0.7**	6.66**	0.33**
اثر متقابل A × B	4	12.58**	0.084**	11.86**	0.048 ^{ns}	86.045**	26.26 ^{ns}	0.274*	4.07**	1.06**	8.93**	1.41**
اشتباه آزمایشی Error	18	1.47	0.0073	0.37	0.017	3.055	1.61	0.0907	0.05	0.0712	0.155	0.026
ضریب تغییرات Coefficient of variation (%)		7.33	6.89	5.31	21.2	2.03	4.92	14.5	2.4	6.83	2.9	4.13

ns ، * و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱
 ns, * and ** non-significant and significant at 5% and 1% probability, respectively

جدول ۲- مقایسه میانگین ویژگی‌های مورفولوژیکی در حسن یوسف تحت تأثیر شدت و مدت تنش مکانیکی

Table 2- Mean comparison of morphological characteristics of *Coleus blumei* under frequency and duration of mechanical stress

مدت تنش Duration of stress (min)	شدت تنش Frequency of stress (Hz)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	طول شاخه جانبی Length of axillary shoots (cm)	تعداد شاخه جانبی No. of axillary shoots/plant	تعداد برگ در بوته No. of leaves/plant	مساحت برگ Leaf area (cm ² /plant)	میانگین سطح برگ Mean leaf area (cm ²)	طول ریشه Root length (cm)	حجم ریشه Root volume (cm ³)
0		29.5a	47.8a	60.1a	11.0a	64.7a	1423.87a	52.89a	30.6a	28.22a
5		23.88b	44.6b	44.1b	9.0b	56.7b	949b	45.64b	25.0b	14.11b
10		22.5c	42.2c	34.1c	8.7b	52.0b	877b	45.09b	23.7b	11.77c
	7.5	26.55a	46.4a	49.2a	9.9a	59.0a	11226a	48.27a	27.1a	19.55a
	10	25.27b	45.6a	47.4a	9.7ab	57.2a	1076a	48.27a	26.8a	17.77b
	12.5	24.05c	42.7b	41.7b	9.2b	57.1a	1056a	47.06a	25.4a	16.77c
	7.5	29.83a	48.1a	70.7a	12.0a	68.7a	1479a	50.73ab	30.8ab	28.33a
0	10	29.5a	47.7ab	58.5b	10.7b	60.7ab	1252ab	54.86a	29.8abc	28.33a
	12.5	29.16a	47.6ab	51.0c	10.3bc	64.7a	1541a	53.10a	31.2a	28.00a
	7.5	25.16b	46.7ab	41.3e	8.0f	54.0bc	944c	47.53bc	24.8de	12.00c
5	10	23.66cd	46.3ab	47.5cd	8.7ef	55.3bc	897c	44.50c	26.0bcd	18.00b
	12.5	22.83d	41.0d	43.5de	9.7cd	60.7ab	791c	43.26c	24.2de	12.33c
	7.5	24.66bc	44.4bc	35.5f	9.0de	49.0c	942c	46.55abc	24.7de	10.00d
10	10	22.66d	42.7cd	36.2f	8.3ef	55.3bc	1009c	45.58c	25.5cde	12.33c
	12.5	20.16e	39.5d	30.7g	9.7cd	51.7c	895c	44.80c	20.8e	13.00c

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد براساس آزمون PLSD می‌باشند.

هر عدد نشان‌دهنده‌ی میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد می‌باشدValues followed with the same letter(s) (column-wise) are not significantly different at $P<0.05$ according to PLSD.Values are the mean of three replications $\pm$ S.E.

جدول ۳- مقایسه میانگین بیوماس ساقه، برگ و ریشه در حسن یوسف تحت تأثیر شدت و مدت تنش مکانیکی

Table 3- Mean comparison of stems, leaves and roots biomass of *Coleus blumei* under frequency and duration of mechanical stress

مدت تنش Duration of stress (min)	شدت تنش Frequency of stress (Hz)	وزن تر ساقه Stem FW (g/plant)	وزن خشک ساقه Stem DW (g/plant)	وزن تر برگ Leaf FW (g)	وزن خشک برگ Leaf DW (g)	وزن تر ریشه Root FW (g)	وزن خشک ریشه Root DW (g)
0		16.37a	0.76a	21.42a	1.6a	16.01a	0.82a
5		10.89b	0.56b	14.28b	1.07b	10.05b	0.53b
10		8.62c	0.47b	13.84b	1.07b	8.26c	0.49b
	7.5	12.83a	0.62a	16.84a	1.25a	11.94a	0.64a
	10	12.71a	0.58a	16.55a	1.25a	11.78a	0.61a
	12.5	10.35b	0.58a	16.15a	1.24a	10.59b	0.58a
	7.5	12.63c	0.71ab	22.77a	1.7a	15.31b	0.84ab
0	10	16.06b	0.74a	18.35b	1.4b	14.2c	0.69bc
	12.5	20.41a	0.83a	23.15a	1.7a	18.52a	0.93a
	7.5	9.15de	0.58bc	13.82c	1.13cd	9.26f	0.52cde
5	10	12.46c	0.6bc	15.01c	1.1cd	11.24d	0.61cde
	12.5	11.07cd	0.5cd	14.02c	1de	9.65ef	0.45de
	7.5	9.27d	0.47cd	13.07c	0.92e	7.22g	0.39e
10	10	9.60d	0.52cd	15.11c	1.22c	10.38de	0.62bcd
	12.5	7.01e	0.42d	13.35c	1.06de	7.17g	0.45de

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد براساس آزمون PLSD می‌باشند.

هر عدد نشان‌دهنده‌ی میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد می‌باشدValues followed with the same letter(s) (column-wise) are not significantly different at $P<0.05$ according to PLSD.Values are the mean of three replications $\pm$ S.E.

یک درصد معنی دار شد. در تمام تیمارهای تنش لرزشی به جز گیاهانی که با شدت ۱۰ هرتز تحت تنش بودند، افزایش مدت و شدت تنش باعث افزایش سطح کلروفیل و کارتنوئید در برگ گیاهان تحت تنش نسبت به نمونه‌های شاهد شد و بیشترین میزان آن در گیاهانی که به مدت ۱۰ دقیقه و با فرکانس ۱۲/۵ هرتز تحت تنش لرزشی قرار گرفتند، مشاهده شد (جدول ۴). گراهام و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که تنش مکانیکی بر روی فلفل باعث افزایش نسبی سطح کلروفیل برگ شد (۲۳). لاتیمر و میشل (۱۹۸۸) هم نتایج مشابهی را از افزایش محتوای کلروفیل برگ دانه‌های بادمجان^۳ در اثر تنش تکانی گزارش دادند (۲۸).

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج حاصل از این تحقیق، نشان‌دهنده اثرات مثبت تنش لرزشی بر کنترل رشد گیاه حسن یوسف بود. اعمال تنش در تمام سطوح آزمایش باعث کاهش ارتفاع گیاه شده و ویژگی‌های رشدی دیگر گیاه مانند تعداد و سطح برگ، طول ریشه، بیوماس گیاه و محتوای نسبی آب برگ نیز نسبت به شاهد کاهش نشان دادند، اما اعمال تنش تأثیری در نشت یونی نداشت. لذا استفاده از روش‌های غیرشیمیایی کنترل رشد گیاهان مانند اعمال تنش لرزشی، جهت تولید گیاهان گل‌دانی و آپارتمانی کوتاه و پرپشت، به‌دلیل هزینه پایین، سهولت کار و عدم آلودگی زیست محیطی، توجه بیشتری را می‌طلبد.

تنش‌های مکانیکی با کاهش منافذ خاک باعث فشردگی خاک شده و در چنین خاکی، از رشد ریشه‌ها ممانعت و یا اینکه رشد آنها با محدودیت روبرو می‌گردد. اثرات منفی تنش مکانیکی بر روی ریشه‌ها به کرات گزارش شده است (۲۵)، در آزمایشی گیاهچه‌های هفت روزه جو در بسترهای تحت تنش مکانیکی و بدون تنش قرار گرفتند، تنش مکانیکی باعث کاهش طول ریشه‌ها نسبت به تیمار شاهد شد (۳۱). در مورد ویژگی وزن خشک ساقه، برگ و ریشه، تنها اثر اصلی مدت تنش در سطح یک درصد معنی دار شد و اثر شدت تنش و اثر متقابل مدت و شدت تنش معنی دار نشد (جدول ۱). اعمال تنش صرفنظر از زمان و شدت تنش بطور یکسان باعث کاهش وزن خشک ساقه، برگ و ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد شد (جدول ۳). پوتنین و ویپیو (۳۶) نشان دادند که تنش تکانی باعث کاهش وزن تر و افزایش وزن خشک گیاه در دانه‌های گل‌کلم نسبت به گیاهان شاهد شد، اما گراهام و ویلر (۱۹) نتایج مشابهی با پژوهش حاضر را بدست آورده و نشان دادند که تنش مکانیکی بر روی گیاه فلفل باعث کاهش وزن تر و خشک ریشه و ساقه نسبت به گیاهان شاهد شد. همچنین تنش مکانیکی از نوع برس‌کشی بر روی کاهو^۲ باعث کاهش وزن خشک ساقه در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد شد (۷).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل مدت و شدت تنش مکانیکی بر محتوای نسبی آب برگ در سطح یک درصد معنی دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که افزایش مدت زمان و شدت اعمال تنش باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تحت این تنش نسبت به تیمار شاهد شد، بطوری که، گیاهانی که با شدت ۱۲/۵ هرتز و به مدت ۱۰ دقیقه تحت تنش مکانیکی بودند کمترین محتوای نسبی آب را نشان دادند. خواجه‌پور و کافی (۱۹) نیز نتایج مشابهی را بدست آورده و نشان دادند که تنش مکانیکی که توسط باد ایجاد شد باعث کاهش محتوای نسبی آب در گیاهان تحت تنش نسبت به نمونه‌های شاهد شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) همچنین نشان دادند که اثر تنش مکانیکی بر نشت یونی گیاهان تحت تنش معنی دار نبود. تیمارهای تنش لرزشی اختلاف معنی‌داری را در میزان نشت الکترولیت سلول‌های برگ گیاهان نسبت به گیاهان شاهد نشان نداد. اما اثر متقابل مدت و شدت تنش مکانیکی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح پنج درصد معنی دار بود. در بین تیمارها، فقط اعمال تنش با شدت ۱۰ هرتز باعث کاهش مالون‌دی‌آلدئید در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد شد و در بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد (جدول ۴). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل شدت و مدت تنش لرزشی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح

1- *Brassica oleracea*

2- *Lactuca sativa*

3- *Solanum melangena*

جدول ۴- مقایسه میانگین ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در حسن یوسف تحت تاثیر شدت و مدت تنش مکانیکی
Table 4- Mean comparison of physiological and biochemical characteristics of *Coleus blumei* under frequency and duration of mechanical stress

مدت تنش Duration of stress (min)	شدت تنش Frequency of stress (Hz)	محتوای نسبی آب RWC (%)	نشت یونی Electrolyte leakage (%)	مالون دی آلدئید MDA ($\mu\text{mol gFW}^{-1}$)	کلروفیل a Chl a (mg g FW^{-1})	کلروفیل b Chl b (mg g FW^{-1})	کلروفیل کل Total Ch (mg g FW^{-1})	کارتنوئید Carotenoids (mg g FW^{-1})
0		89.1a	26.3a	2.34a	7.04c	2.83b	9.85c	2.83b
5		85.6b	25.7a	1.96b	7.52b	2.91ab	10.44b	2.9b
10		82.4c	25.3a	1.89b	7.83a	3.12a	10.95a	3.08a
	7.5	86.3a	26.2a	2.29a	7.84a	3.2a	10.97a	2.89b
	10	85.6a	25.9a	1.98b	6.79b	3.01a	10.85a	2.77b
	12.5	85.2a	25.3a	1.92b	7.76a	2.65b	9.42b	3.15a
	7.5	88.3bc	24.4de	2.5a	6.75e	2.66cd	9.41d	2.48de
0	10	86.2cd	25.1cd	2.43a	7.42d	3.17b	10.53c	3.32b
	12.5	92.7a	29.5a	2.1abc	6.96e	2.66cd	9.62d	2.7cd
	7.5	81.0f	28.2ab	2.17ab	8.62b	3.29b	11.91b	3.33b
5	10	90.8ab	26.6bc	1.87bcd	6.91e	2.48d	9.39d	2.63cde
	12.5	85.0de	22.4e	1.64cd	7.04de	2.97bc	10.01cd	2.73cd
	7.5	87.5cd	25.1cd	2.21ab	8.16c	3.08bc	11.24b	2.85c
10	10	82.0ef	24.1de	1.47d	6.04f	2.31d	8.35e	2.38e
	12.5	77.8g	26.7bc	2.21ab	9.29a	3.97a	13.27a	4.03a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد براساس آزمون PLSD می‌باشند. هر عدد نشان‌دهنده میانگین سه تکرار $\pm$ خطای استاندارد می‌باشد

Values followed with the same letter(s) (column-wise) are not significantly different at $P < 0.05$ according to PLSD. Values are the mean of three replications $\pm$ S.E.

منابع

- 1- Al-khassawneh M.N., Karam S.N., and Shibli R.A. 2006. Growth and flowering of iris (*Iris nigricans* Dinsm). Following treatment with plant growth regulators. Journal of Scientia Horticulturae, 107: 187-193.
- 2- Alvarez S., Navarro A., Banon S., and Sanchez-Blanco M.J. 2009. Regulated deficit irrigation in potted Dianthus plant: Effects of severe and moderate water stress on growth and physiological responses. Journal of Scientia Horticulturae, 122: 579-585.
- 3- Autio J., Voipo I., and Koivunen T. 1994. Responses of aster, dusty miller, and petunia seedlings to daily exposure to mechanical stress. HortScience, 29: 1449-1452.
- 4- Banon S., Gonzalez A., Cano E., Franco J., and Fernandez J. 2002. Growth, development and color response of potted *Dianthus caryophyllus* cv. Mondrian to paclobutrazol treatment. Journal of Scientia Horticulturae, 94: 371-377.
- 5- Barker J.E. 1979. Growth and Wood properties of *Pinus radiata* in relation to applied ethylene. New Zealand Journal of Forest Science, 9: 15-19.
- 6- Bi G., Scagel C.F., and Harkess R. 2008. Rate of Nitrogen fertigation during vegetative growth and spray applications of urea in the fall alters growth and flowering of florists' Hydrangeas. Journal of Hort Science, 43: 472-477.
- 7- Biddington N.L., and Dearman A.S. 1978. The effects of mechanically-induced stress on the growth of water and nutrient deficient lettuce and cauliflowers seedlings, Annals of Botany, 59: 679-683.
- 8- Biro R.L., and Jaffe M.J. 1984. Thigmomorphogenesis: ethylene evolution and its role in the changes observed in mechanically perturbed bean plants. Physiologia Plantarum, 62: 289-296.

- 9- Bjerregaard Lund J., Blom T., and Mazanti Aaslyng J. 2007. End-of-day lighting with different Red/Far-red ratios using light-emitting diodes affects plant growth of *Chrysanthemum × morifolium* ramat. 'Carlo charm'. Journal of HortiScience, 42: 1609-1611.
- 10- Bjorkman T. 1999. Dose and Timing of Brushing to Control Excessive Hypocotyl Elongation in Cucumber Transplants. Hortechonology, 2: 224-226.
- 11- Boeger M.R.T., and Poulson M.E. 2003. Morphological adaptations and photosynthetic rates of amphibious *Veronica anagallis-aquatica* L. (Scrophulariaceae) under different flow regimes. Aqua. Bot., 75: 123-135.
- 12- Brotton C.J., and Cole C.J. 2009. Brushing Using a Hand Coated With Body Lotion or in a Latex Glove Decreases African violet Plant Quality and Size. Journal of Hort Technology, 190. pp. 613-616.
- 13- Buege J.A., and Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzyme, 52: 302-310.
- 14- Burnett S., Lersel M., and Thomas P. 2005. PEG-8000 Alters Morphology and Nutrient concentration of Hydroponic Impatiens. Journal of Hort Science, 40: 1768-1772.
- 15- Chia P-L., and Kubota C. 2010. End-of-day Far-red light quality and dose requirements for tomato rootstock hypocotyl elongation. Journal of HortScience, 45: 1501-1506.
- 16- Dhopte A.M., and Livera M.M. 2002. Principles and techniques for plant scientist:
- 17- Erner Y., and Jaffe M.J. 1982. Thigmomorphogenesis: the involvement of Auxin and Absciscic Acid in Growth retardation due to Mechanical perturbation. Journal of Plant & Cell physiol, 23: 935-941.
- 18- Garner L.C., and Langton F.A. 1997. Brushing pansy (*Viola tricolor*) transplants: a flexible, effective method for cotrolling plant size, Scientia Horticulture, 70: 187-195.
- 19- Graham T., and Wheeler R. 2017. Mechanical stimulation modifies canopy architecture and improves volume utilization efficiency in bell pepper: implications for bioregenerative life-support and vertical farming, open Agriculture, 42-51.
- 20- Heuchert J.C., Marks J.S. and Mitchel C.A. 1983. Strengthening of tomato shoots by gyratory shaking. Journal of the American Society of Horticultural Science, 10: 801-805.
- 21- Jaffe M.J., Biro R., and Bridle K. 1980. Thigmomorphogenesis: calibration of the parameters of the sensory function in beans, Physio. Plant. 49: 410-416.
- 22- Jones R.S., and Mitchell C.A. 1988. A marking device for the identification and measurement of growth zones in seedlings with minimum mechanical stress. Annuals of Applied Biology, 113: 437-441.
- 23- Jones R.S., Goe L.L., Montgomery L., and Mitchell C.A. 1990. Seismic stress response of soybean to different photosynthetic photon flux. Annuals of Botany, 66: 617-622.
- 24- Kafei M., Burzoei A., Salehei M., Kamandei A., Maasumei A., and Nabati J. 2009. Physiology of Environmental Stresses in Plants. Publications University of Mashhad.
- 25- Kafei M., and Damghanei A. 2002. The Mechanisms of Resistance of Plants to Environmental Stresses (translation). Ferdowsi University of Mashhad Publishing house.
- 26- Khajepoor R., Kafei M., Nezamei A., and Khazaei H. 2017. The Effect of Wind Mechanical Stress on Some Morphological Traits of two Semi-Dwarf and Normal Wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. Journal of Crop Production, 10: 101-114.
- 27- Khalighi A. 1997. Potting and Breeding Ornamental Plants of Iran. Ruzbehan Publications.
- 28- Latimer J., and Mitchell C.A. 1988. Effects of Mechanical stress or Absciscic Acid on Growth, water status and leaf Absciscic Acid content of Eggplant seedlings. Journal of Scientia Horticulturae, 36: 37-46.
- 29- Latimer J.G., Pappas T., and Mitchel C.A. 1986. Growth responses of eggplant to mechanical stress in greenhouse and outdoor environments. Journal of the American Society for Horticultural Science, 111: 694-698.
- 30- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio-membranes. In: Method in Enzymol. (eds.s.p.colowick and N.O.Kaplan) Academic press. NewYork, 48: 350-382.
- 31- Lindberg S., and Petterson S. 1985. Effects of mechanical stress on uptake and distribution of nutrients in barley. Plant and Soil, 83: 295-309.
- 32- Lykas Ch., and Papafotiou M. 2008. *Gardenia jasminoides* Height control using a photoselective polyethylene film. Journal of Hort science, 43: 2027-2033.
- 33- Mitchell C.A. 1977. Influence of mechanical stress on Auxin-stimulated growth of excised pea stem section. Physiologia Plantarum, 41: 129-134.
- 34- Nagpaly A., Singh B., Sharma S., Rani G., and Virk G. 2008. *Coleus spp*: micropropagation and in vitro production of secondary metabolites- Global science books, 2: 1-17.
- 35- Pappas T., and Mitchel G.A. 1985. Effects of seismic stress on the vegetative growth of *Glycine max* (L.) Merr. cv. Wells II. Plant Cell and Environment, 8: 143-148.
- 36- Pontinen V., and Voipio I. 1992. Different Methods of Mechanical stress in controlling the Growth of Lettuce and Cauliflower seedling. Journal of Acta Agric. Scand., Sect. B, Soil and Plant Sci. 42: 246-250.

- 37- Sone K., Noguchi K., and Terashima I. 2006. Mechanical and ecophysiological significance of the form of a young *Acer rufinerve* tree: vertical gradient in branch mechanical properties. *Tree Physiology*, 26: 1549-1558.
- 38- Suge Hiroshi. 1978. Growth and gibberellin production in *Phaseolus vulgaris* as affected by mechanical stress, plant & cell physio, 1: 303-310.
- 39- Telewski F., and Jaffe M.J. 1986. Thigmomorphogenesis: the role of ethylene in the response of *Pinus taeda* and *Abies fraseri* to mechanical perturbation. *Physiologia Plantarum*, 66: 227-233.
- 40- Wang Y-H., He W-M., Dong M., Yu F-H., Zhang L-L., Cui Q-G., and Chu Y. 2008. Effects of shaking on the Growth and Mechanical properties of *Hedysarum leave* may be independent of water regimes. *Journal of Plant Sci.* 169: 503-508.
- 41- Yamasaki S., and Dillenburg L.C. 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brazilian Fisiologia Vegetal*, 11: 69-75.



The Effect of Mechanical Stress on Some Morpho-Physiological and Biochemical Characteristics of *Coleus blumei* Benth.

A. Safaei Far¹- A. Rezaei Nejad^{2*}- S. Mousavi-Fard³ - F. Shahbazi⁴

Received: 17-06-2018

Accepted: 03-12-2018

Introduction: *Coleus* (*Coleus blumei* Benth.) from Lamiaceae family is an herbaceous, fast growing plant with colorful and decorative leaves which is used as an ornamental and pot plants. Producing short and compact potted plants is valuable in floral industry. A chemical procedure has long been used for this purpose. However, chemical procedure is environmentally unsafe, while it is expensive. Therefore, researches are carried out to find cheaper and safer methods. Several researches have been done on height control, such as genetic manipulation, temperature management, light quality manipulation, controlled water deficit and withholding nutrients. Controlled mechanical stresses are included the potential non-chemical methods. In the present research, using a laboratory vibration simulator, the effects of vibration stress with different frequencies and durations had been examined on growth control of coleus.

Material and Methods: The experiment was conducted at the research greenhouse of Lorestan University, Iran in 2017. Uniform rooted cuttings of *Coleus* were transplanted in plastic pots (15 cm diameter and height) that filled with equal proportion of soil, sand and cow manure. The experimental design was a factorial based on a completely randomized design with three replications. After plant establishment, the treatments were applied every morning, with 7.5, 10 and 12.5 Hz frequencies and 0, 5 and 10 min durations, using a laboratory vibration simulator. Treatments application lasted for four weeks and then, plant height, stem diameter, total number of leaves per plant and leaf area, total number and length of side shoots, root volume and length, leaf, stem and root fresh and dry weights, relative water content, electrolyte leakage and the amounts of photosynthetic pigments were assessed.

Results: The results showed that interaction effects of frequency and duration of mechanical stress were significant at the 0.01 level in plant height, the total number and length of side shoots, root volume, leaf, stem and root fresh and dry weights, relative water content, the amounts of photosynthetic pigments, while it was not significant on electrolyte leakage. The main effects of duration of mechanical stress were significant at the 0.01 level in total number of leaves per plant and leaf area. Mean comparisons showed that with increasing frequency and duration of mechanical stress, plant height, total number of leaves per plant and leaf area, the total number and length of side shoots, root volume and length, leaf, stem and root fresh and dry weights and relative water content decreased. The shortest plant height was found in plants that treated with 12.5 frequency for 10 min which was 31% shorter than control plants. The main effects of frequency and duration of mechanical stress were significant at the 0.01 level in stem diameter, while their interaction effect was not significant. Stem diameter reduced with increasing stress duration. The stress effect on stem diameter was similar in 7.5 and 10 Hz frequencies. However, stem diameter was lower in plants treated with 12.5 Hz. Mechanical stress decreased the total number of leaves per plant and leaf area and the effects of 5 and 10 min duration were similar. With increasing frequency and duration of mechanical stress, the amounts of photosynthetic pigments increased; so that, the highest amount of those were found in plants that treated with 12.5 Hz frequency for 10 min.

Discussion: According to the results of the present research, vibration stress could control plant growth in *Coleus*. Stress treatments with all frequencies and durations, decreased plant height and other growth parameters i.e. the total number of leaves per plant. Leaf area, root length, plant biomass and relative water content were also decreased, while, electrolyte leakage was not significantly affected. At the same time, mechanical stress increased the amounts of photosynthetic pigments. Plants treated with 7.5 Hz frequency for 5 min showed 16% shorter plant height compared with controls, while other plant growth characteristics including stem diameter, leaf area, electrolyte leakage, MDA content and the amounts of photosynthetic pigments were similar to those in control plants. Therefore, this treatment

1, 2 and 3- M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor, Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, Respectively

(*- Corresponding Author Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir)

4- Associate Professor, Biosystem Engineering, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

could be recommended as a good vibration treatment for practical use. However, based on the production conditions, other vibration frequencies and durations could be chosen. In total, vibration stress using a vibration simulator could be a proper method for producing short and compact pot plants due to its cheapness and being easy to use and an environmentally friendly method.

Keywords: Coleus, Growth control, Plant height, Vibration stress



دستیابی به فیتواستروژن فروتینین موجود در ریشه گیاه کما (*Ferula ovina*) در شرایط درون شیشه‌ای با تأکید بر حفظ ذخایر ژرم پلاسما

هدی زارع میرک آباد^۱ - محمد فارسی^{۲*} - سعید ملک زاده شفاوردی^۳ - مهرداد ایرانشاهی^۴ - عبدالرضا باقری^۵ - نسرین مشتاقی^۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۲۱

چکیده

ایران تنها رویشگاه طبیعی گیاه کما (*Ferula ovina*) است. ریشه‌های این گیاه دارای فروتینین، یکی از قوی‌ترین و گران‌قیمت‌ترین فیتواستروژن‌ها، با پتانسیل درمان پوکی استخوان است. با توجه به خواب عمیق بذر کما، عدم امکان تولید فروتینین با روش‌های شیمیایی و نیاز به تخریب منابع طبیعی به دلیل وجود فروتینین در ریشه کما، دستیابی به فروتینین در شرایط آزمایشگاهی ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است. لذا پژوهش حاضر با هدف کاهش ریشه‌کنی گیاه در طبیعت و دستیابی به فروتینین در شرایط درون شیشه‌ای گیاه در شرایط درون شیشه‌ای، ۳۴ محیط کشت باززایی غیرمستقیم و ۱۱ محیط کشت ریشه‌زایی با استفاده از طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آزمون TLC نمونه‌های کشت بافتی در جهت دسترسی به فروتینین بدون آسیب رساندن به ذخایر ژرم پلاسما مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی نشان داد، کالوس‌های سبز فشرده بزرگ در محیط کشت MS دارای ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر، شاخه‌های بلند و شاداب در محیط کشت MS با ترکیب ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر MS kin و ریشه در شرایط درون شیشه‌ای در محیط کشت MS ۱/۲ با ترکیب ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر محیط‌های کشت، تولید می‌شود. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، امکان تولید و نگهداری درون شیشه‌ای گیاه کما از طریق کشت بافت وجود دارد. همچنین با تأیید وجود فروتینین در نمونه‌های کشت بافتی، تولید انبوه این ماده از طریق کشت سوسپانسیون سلولی و با استفاده از بیوراکتور امکان‌پذیر است. نگهداری *F. ovina* در شرایط درون شیشه‌ای، امکان دستیابی به گیاه کما بدون محدودیت‌های فصل رشد و رویشگاه و در نتیجه دسترسی به فروتینین موجود در ریشه آن با حفظ ذخایر ژرم پلاسما گیاه را فراهم آورد.

واژه‌های کلیدی: حفاظت ذخایر ژرم پلاسما، فروتینین، کروماتوگرافی لایه نازک، کشت بافت، *Ferula ovina*

مقدمه

گیاه کما (*Ferula ovina*) یکی از گیاهان باارزش اندمیک ایران بوده و متعلق به خانواده چتریان (Apiaceae) است. پراکنش این گیاه در اغلب نقاط ایران از جمله استان اصفهان، چهار محال و بختیاری، خراسان رضوی و شمالی و برخی استان‌های دیگر گزارش شده است.

این گیاه از جمله گیاهان خانواده‌ی چتریان است که ارتفاع آن به ۱ تا ۱/۵ متر می‌رسد. برگ‌ها دمبرگ غلافدار دارند و پهنک برگ، بزرگ و دارای بریدگی‌های نسبتاً عمیق است. برگ‌ها، سبز تیره و گل‌های آن به رنگ زرد است (۴). با توجه به برداشت بی‌رویه و بهره برداری بیش از حد، پراکنش آن در ایران در معرض خطر قرار گرفته است (۲).

مطالعه آت اکولوژی گیاه کما در استان تهران نشان داد این گونه گیاهی در دامنه ارتفاعی ۲۰۰۰ تا ۳۲۰۰ متر از سطح دریا رویش دارد و به لحاظ درصد شیب و جهت شیب تقریباً محدودیتی ندارد. بارندگی در رویشگاه‌های این گونه بیش از ۴۰۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه ۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و در خاک‌های با بافت لومی می‌روید. هدایت الکتریکی خاک رویشگاه کمتر از یک دسی‌زیمنس بر متر و اسیدیته آن در حدود ۷ تا ۷/۵ می‌باشد. نتایج حاصل از مطالعه

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ - به ترتیب دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، استاد، دانشیار، استاد و

دانشیار گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

(*) نویسنده مسئول: (Email: farsii@um.ac.ir)

۴ - استاد گروه فارماکوتوزی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

نشان‌دهنده سه عامل مهم تعیین کننده نوع پراکنش کما یعنی حاشیه گرای، تخصص‌گرایی و تحمل‌پذیری در منطقه‌ی مطالعاتی می‌باشد (۴).

بذر *F. ovina* خواب مرفوفیزیولوژیکی پیچیده عمیقی دارد. در شرایط طبیعی، بذرها طی زمستان در خاک سرد جوانه می‌زنند و در بهار اندام هوایی (شاخه‌ها) جوانه می‌زند (۷). لذا امکان تکثیر و باززایی طبیعی این گونه از طریق بذر بسیار ضعیف است. نتایج مطالعات انجام شده بر روی عوامل مؤثر در شکست خواب بذرها، نشان می‌دهد تیمار بذور با پیش سرمادهی مرطوب به مدت ۴-۶ هفته و به دنبال آن غوطه‌وری در محلول GA3 جهت القاء جوانه‌زنی بذور و بهبود شاخصه‌های رشد دانهال‌های حاصل مؤثر می‌باشد (۱). رهنما و توکل افشاری (۱۷) در مطالعه خواب بذر یکی از گونه‌های نزدیک به کما (*F. communis*)، علاوه بر اشاره به وجود خواب عمیق درون‌زا و برون‌زا در بذور این گیاه، استفاده همزمان از پیش سرمادهی و جیبرلین را در شکست خواب بذر پیشنهاد نمودند.

گیاه *F. ovina* یکی از ۳۰ گونه *Ferula* در ایران است (۱۳). در تمام گونه‌های *Ferula* بخش زیادی از متابولیت‌های ثانویه در ریشه ذخیره می‌شوند. تنوع متابولیکی در گیاه کما (*F. ovina*) بر خلاف سایر گونه‌های جنس *Ferula* مانند آنغوزه (*F. assafoetida*) و باریجه (*F. gummosa*) زیاد نیست و محدود به سه یا چهار ترکیب ترپنئیدی از جمله استایلوژین، فروتینین و شیمگین می‌شود. نکته جالب توجه وجود مقادیر زیاد فروتینین، به عنوان قوی‌ترین فیتواستروژن طبیعی، در این گیاه است که جنبه‌های فارماکولوژیکی این گونه از *Ferula* را بالا می‌برد. مقدار محتوای فروتینین این گیاه در مقایسه با بسیاری از گیاهان این جنس بیشتر می‌باشد. این در حالی است که در گونه‌های دیگر مخلوطی از سزکویی ترپن کومارین‌ها، ترکیبات گوگرددار، متابولیت‌های گلیکوزیده و سزکویی ترپن لاکتون‌ها گزارش شده است (۱۳). لازم به ذکر است وجود استایلوژین و شیمگین در اندام هوایی *F. ovina* نیز گزارش شده است (۱۰). تنها راه دستیابی به فروتینین (جاشکنادیول پی هیدروکسی بنزوات)^۱، ریشه برخی از گیاهان جنس *Ferula* مانند *F. communis* (۳) و *F. hermonis* (۲۰) و *F. ovina* (۱۲) است. مطالعات زیادی در زمینه نقش فروتینین در درمان پوکی استخوان (۶، ۸، ۹، ۱۶ و ۱۹) صورت گرفته است.

استفاده از روش‌های کشت بافت گیاهی یکی از راهکارهای بیوتکنولوژی در زمینه حفاظت از گیاهان دارویی به شمار می‌رود. ریزاندیادی با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف مانند برگ، دمبرگ، ساقه، ریشه و قسمت‌های زایشی گیاه و کشت آنها بر روی محیط کشت‌های مصنوعی، در شرایط کنترل شده درون شیشه‌ای

امکان تکثیر و باززایی گیاهان دارویی را بدون محدودیت زمانی فراهم می‌آورد. با توجه به این که زیستگاه‌های طبیعی بسیاری از گونه‌های دارویی به دلیل بهره‌برداری انسان‌ها در حال فرسایش و نابودی است. در بسیاری از کشورهای دنیا هیچ گونه قانونی در مورد کنترل برداشت گیاهان دارویی وجود ندارد، به طوری که در برخی از کشورها ۹۰٪ گیاهان دارویی از طریق برداشت از رویشگاه طبیعی تأمین می‌شوند. از طرفی تکثیر بسیاری از گونه‌های دارویی در خطر انقراض طولانی بوده و نرخ تجدید رویشگاه آنها بسیار کمتر از سرعت برداشت آنها از طبیعت است (۱۸). همچنین با توجه به این که امکان تولید انبوه و سریع متابولیت‌های ثانویه با استفاده از روش‌های شیمیایی بسیار مشکل و یا غیرممکن است. استفاده از راهکارهای بیوتکنولوژی مانند کشت بافت می‌تواند در افزایش تولید آنها بدون آسیب رساندن به ذخایر ژرم پلاسما مؤثر باشد (۱۵).

تاکنون تولید برخی از گیاهان جنس *Ferula* مانند باریجه از طریق کشت بافت مورد بررسی قرار گرفته است. به عنوان مثال، برنارد و همکاران (۵)، در بررسی جنین‌زایی سوماتیکی باریجه با استفاده از نمک‌های محیط کشت MS (۱۴)، ویتامین‌های محیط کشت B5، ۲۰۰ میلی گرم در لیتر هیدرولیزات کازئین و ۳ درصد (v/w) ساکارز در pH=۵/۸ به عنوان محیط پایه و افزودن ۱ میلی گرم در لیتر BAP در محیط کشت جامد شده با آگار ۸٪ محیط کشت کالوس دهی را آماده نمودند و بعد از سه ماه واکشت کالوس‌ها در محیط مشابه، کالوس‌ها را به محیط دارای ۱ میلی گرم در لیتر NAA جنین زایی سوماتیکی را در کالوس‌ها القا کردند و در نهایت امکان باززایی دانهال‌های سوماتیک از طریق جنین‌زایی مستقیم از زیگوت فراهم نشد. هادی و همکاران (۱۱)، قابلیت نگهداری درون شیشه‌ای گیاه باریجه را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که جوانه انتهایی حاصل از گیاهان باریجه را می‌توان در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین در دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و تحت دوره نوری ۱۶ ساعت به مدت ۵ ماه و از طریق ۴ زیرکشت به صورت فعال (دارای قابلیت تولید برگ) نگهداری نمود. دمبرگ‌های حاصل از جوانه انتهایی گیاهان کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای، ریزنمونه‌های بسیار مستعدی برای کالوس‌زایی بوده و در محیط کشت B5 حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین و ۱۰ میلی گرم بر لیتر NAA بهترین کالوس‌زایی را از نظر کمی و کیفی داشتند.

با توجه به این که فروتینین در ریشه گیاه تولید می‌شود، تنها راه بهره‌مندی از مزایای این فیتواستروژن با ارزش، ریشه‌کشی برخی از گیاهان جنس *Ferula* است. رویش یکی از این گیاهان در کشور ایران به عنوان منبع دارویی با ارزش از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اما استفاده از گیاه طبیعی موجب نابودی آن در زیستگاه طبیعی می‌شود که می‌تواند موجب آسیب رساندن به ذخایر ژنتیکی این گیاه ارزشمند بومی کشور و در معرض خطر انقراض قرار گرفتن آن شود.

لامپ‌های فلورسنت سفید تأمین می‌شد، نگهداری شدند. واکشت نمونه‌ها هر ۷-۱۰ روز یک بار صورت گرفت، بعد از گذشت یک ماه در صورت شاخه‌دهی یا کالوس‌دهی بسته به شرایط و میزان رشد واکشت هر دو هفته یک بار در محیط کشت جدید با ترکیب هورمونی مشابه انجام شد. پس از گذشت چهار هفته، وزن تر کالوس‌های حاصل به منظور بررسی اثر ترکیبات مختلف هورمونی محیط کشت و القاء کالوس اندازه‌گیری شد و در صورت عدم تولید کالوس در حد مناسب در همان محیط کشت قبلی واکشت شدند.

عصاره‌گیری ریشه‌های طبیعی و نمونه‌های کشت‌بافتی

ریشه‌های گیاه طبیعی هواخشک شدند و سپس به ۵۰ گرم پودر خشک، ۳۰۰ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان افزوده شد. با توجه به هدف آزمایش و غیرقطبی بودن ترپن‌های موجود در ریشه کما، از حلال دی‌کلرومتان به منظور عصاره‌گیری همراه با خالص‌سازی اولیه استفاده شد. پس از ۲۴ ساعت، عصاره‌گیری دی‌کلرومتانی با استفاده از دستگاه روتاری انجام شد. نمونه‌های کشت‌بافتی بعد از کدگذاری هواخشک شدند و سپس در ۶ برابر حجم حلال قرار داده شدند. عصاره‌گیری از کالوس‌ها و ریشه‌های گیاهچه حاصل از کشت‌بافت با استفاده از کاغذ صافی زیر هود شیمیایی انجام شد.

کروماتوگرافی لایه نازک

ابتدا با استفاده از عصاره گیاه طبیعی و با توجه به این که در مناسب‌ترین سیستم حلال، لکه‌ها در قسمت میانی کاغذ تشکیل می‌شوند، سیستم حلال مناسب با استفاده از نسبت‌های مختلف اتروپتروپل به اتیل استات در تانک TLC تعیین شد. سپس حلال‌ها به میزانی که به ۵/۸ سانتی‌متری پایین کاغذ برسد (حدود ۶ تا ۸ میلی‌لیتر با توجه به استفاده از کاغذ ۸×۵)، در تانک TLC ریخته شدند. صفحات TLC با پوشش آلومینیومی (شرکت مرک آلمان) خریداری شد. لکه‌گذاری از یک سانتی‌متری پایین کاغذ TLC انجام شد و کاغذ لکه‌گذاری شده درون تانک قرار داده شد (شکل ۱). تشکیل باند در عصاره نمونه‌های کشت‌بافتی در مقایسه با عصاره ریشه گیاه طبیعی و فروتینین خالص (۹۸٪) تهیه شده از شرکت سیگما مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز داده‌ها

در این مطالعه، همه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با تکرارهای مختلف (حداقل ۳ تکرار) و ۵ ریزنمونه در هر تیمار (۲۴ محیط کشت با ترکیبات مختلف هورمونی جهت بررسی شاخه‌دهی و ۱۱ محیط کشت جهت بررسی ریشه‌دهی ذکر شده در جداول ۱ و ۲) انجام شد. داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA)

دسترسی به گیاه ریشه دار در شرایط آزمایشگاهی با تولید گیاهچه استریل علاوه بر کمک به حفظ ذخایر ژرم پلاسما این گیاه و دسترسی به مواد دارویی گیاهی که امکان تولید آنها به روش‌های شیمیایی وجود ندارد، به دلیل خواب عمیق بذر و همچنین وجود فروتینین در ریشه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. اما تاکنون مطالعاتی در زمینه نگهداری درون شیشه‌ای گیاه کما (*Ferula ovina*) و تولید ریشه دارای فروتینین در شرایط درون شیشه‌ای^۱ گزارش نشده است. لذا این پژوهش با هدف دستیابی به فیتواستروژن فروتینین به عنوان منبع اقتصادی بالارزش در صنایع دارویی، با تأکید بر حفظ منابع طبیعی آن در دو مرحله انجام شد: در مرحله اول تولید گیاه ریشه دار در شرایط درون شیشه‌ای و در مرحله دوم وجود فروتینین در نمونه‌ها با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک^۲ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

دستیابی به گیاه کما با توجه به فصل رشد محدود و مناطق رویش آن بسیار مشکل است، لذا تهیه نمونه گیاهی مناسب و تولید آن در شرایط استریل از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نمونه‌های آزمایشی از رویشگاه زشک شاندیز مشهد (ارتفاع ۱۴۰۰ متر از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۳ دقیقه) با شماره هرباریومی FUMH-24079 جمع‌آوری شد و مورد تأیید کارشناسان دانشکده منابع طبیعی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب روان قرار داده شدند و ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد و سپس هیپو کلریت سدیم ۱/۵ درصد ادامه یافت. به منظور خارج‌سازی مواد ضدعفونی، نمونه‌ها ۳ تا ۵ بار توسط آب مقطر استریل زیر هود شسته شدند. ریزنمونه از قسمت انتهایی اتصال ساقه به ریشه (با توجه به هدف پژوهش) با استفاده از پنس و اسکالپل استریل زیر هود در شرایط استریل تهیه شد.

انتخاب محیط مناسب کالوس‌دهی و شاخه‌دهی

ریز نمونه‌ها در ویال‌های حاوی محیط کشت انتخابی MS با ترکیبات مختلف هورمونی، همراه با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۰/۸ درصد آگار و pH=۵/۸ کشت داده شدند (جدول ۱). ظروف در اتاق رشد با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و شدت نور ۳۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه که به وسیله

1- In vitro

2- Thin Layer Chromatography (TLC)

پاسخ مثبت انجام شد. بنابراین با وجود استفاده از ۲۴ محیط کشت جهت بررسی باززایی غیرمستقیم و ۱۱ محیط کشت ریشه‌دهی در آزمایش ابتدایی، نتایج تجزیه و تحلیل بر روی ۱۰ محیط کشت شاخه زایی، ۸ محیط کشت کالوس‌دهی و ۳ محیط کشت ریشه‌زایی نشان داده شده است.

نامتعادل و با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. با توجه به تعداد مشاهدات متفاوت در هر گروه، اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی ($P < 0.05$) مشخص شد و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel صورت گرفت. به منظور اجتناب از ارباب دار شدن نتایج به سمت تیمارهای با عدم پاسخ به محیط کشت، مقایسه میانگین‌ها میان نمونه‌های با

جدول ۱- کدگذاری محیط‌کشت‌های کالوس‌دهی و شاخه‌زایی *F. ovina* بر اساس تنظیم کننده‌های رشد گیاهی
Table 1- Coding of indirect shoot organogenesis media of *F. ovina* according to Plant Growth regulators (PGRs)

کد Code	محیط کشت MS MS medium	تنظیم کننده‌های رشد گیاهی PGRs (mg/l)				
		BAP	IAA	kin	NAA	IBA
L1	1	0	0	0	0	0
L2	1	1	0	0	0	0
L3	1	0	1	0	0	0
L 4	1	0	1.5	0	0	0
L 5	1	0	0	3	0	0
L 6	1	1	1.5	0	0	0
L 7	1	3	1.5	0	0	0
L 8	1	0	1.5	1	0	0
L 9	1	0	1.5	3	0	0
L 10	1	0	1.5	5	0	0
L 11	1	0	0	0	0.2	0
L 12	1	0	0	0	0.5	0
L 13	1	0	0	0	1	0
L 14	1	0	0	0	1.5	0
L 15	1	0.2	0	0	0.5	0
L 16	1	0.2	0	0	1	0
L 17	1	0.2	0	0	2	0
L 18	1	0.2	0	0	3	0
L 19	1	1	0	0	0.1	0
L 20	1	1	0	0	0.2	0
L 21	1	1	0	0	0.5	0
L 22	1	0	0	3	0.2	0
L 23	1	0	0	5	0.5	0
L 24	½	0.2	0	0	0	3

منظور ایجاد شرایط تاریکی بخش انتهایی ظروف کشت توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد.

انتخاب محیط‌کشت مناسب ریشه‌زایی شاخه‌ها
شاخه‌ها در محیط‌کشت‌های ½MS و MS با ترکیبات مختلف هورمونی جهت بررسی ریشه‌زایی، کشت داده شدند (جدول ۲). به

جدول ۲- کدگذاری محیط‌کشت‌های مورد استفاده جهت بررسی ریشه‌زایی *Ferula ovina* در شرایط درون شیشه‌ای
Table 2- Coding of applied media to investigate *in vitro* rooting of *Ferula ovina*

کد Code	محیط کشت MS MS medium	تنظیم کننده رشد گیاهی PGRs (mg/l)			
		BAP	IBA	IAA	NAA
R0	1	0	0	0	0
R1	1	0	1	0	0
R2	1	0	0	1	0
R3	1	0	0	0	1
R4	1	1	0	1.5	0
R5	½	0	0	0	0
R6	½	0	1	0	0
R7	½	0	0	1	0
R8	½	0	0	0	1
R9	½	0	0	0	1.5
R10	½	0.2	3	0	0



شکل ۱- مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها جهت انجام TLC: A کدگذاری نمونه‌ها بعد از اندازه‌گیری وزن، B افزودن حلال به نمونه‌ها به نسبت ۶ به ۱، C قرار دادن نمونه‌های بیش از ۵ گرم بر روی شیکر برای حل شدن بهتر در حلال، D سونیکیت نمونه‌های با وزن کمتر از ۱ گرم در حمام آب، E عصاره‌گیری زیر هود شیمیایی با استفاده از کاغذ صافی، F آماده‌سازی سیستم حلال به منظور انجام TLC، G لکه‌گذاری و انجام TLC

Figure 1- The process of preparing samples for performing TLC: A. Coding of samples after weighing, B. solvent addition to samples, C. Shaking of samples with more than 5g weight, D. Samples sonication with less than 1g weight in water bath, E.

Performing extraction with filter paper, F. Solvent system identification for TLC, G. Samples applied on the plate to performance TLC test

نتایج و بحث

انتخاب محیط مناسب کالوس دهی

بعد از گذشت ۴ هفته، کالوس زایی تنها در ۸ محیط کشت از ۲۴ محیط مورد بررسی مشاهده شد. از آنجا که شرایط کالوس به لحاظ ساختار، بافت، اندازه و رنگ می تواند نشان دهنده تأثیر مثبت یا منفی

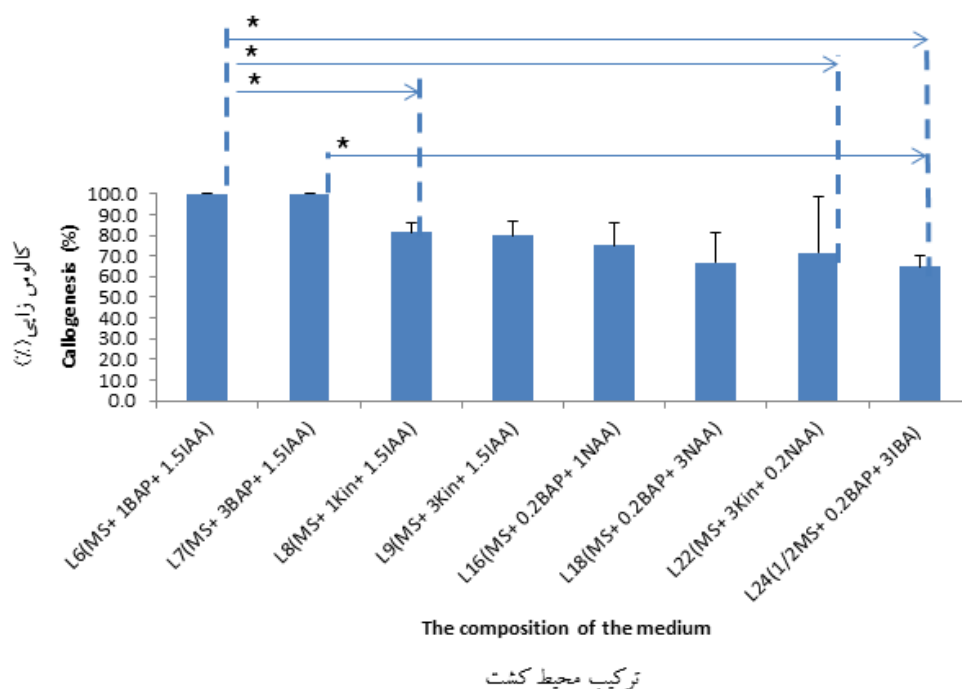
محیط کشت بر آن بوده و همچنین در شاخه دهی آن در مراحل بعد مؤثر است، تحولات صورت گرفته از جمله تغییر ساختار و رنگ کالوس و القاء شاخه مورد بررسی قرار گرفت. به عنوان مثال، در محیط های کشت های L6، L7، L8، L9 و L24 کالوس های سبز رنگ با بافت فشرده و بزرگ تا ۸ گرم تولید شد (شکل ۲).



شکل ۲- تولید کالوس های سبز فشرده و روند رشد کالوس در محیط کشت های کالوس دهی *Ferula ovina*
Figure 2- Green compact callus formation of *Ferula ovina* and callus growth trend on selected media

هورمون BAP در مقادیر ۱ و ۳ میلی گرم بر میلی لیتر کالوس دهی مطلوبی را به همراه داشت. با توجه به این که تفاوت معنی داری در کالوس دهی محیط های L6 و L7 وجود نداشت استفاده از محیط کشت L6 با غلظت هورمون کمتر پیشنهاد می شود.

آزمون معنی داری درصد کالوس دهی پس از حذف محیط هایی که تولید کالوس نداشتند یا کالوس دهی بسیار کمی به همراه داشتند، انجام شد (شکل ۳ و جدول ۳). نتایج نشان داد میزان کالوس دهی در محیط های L6 و L7 به طور معنی داری بیشتر از محیط های دیگر است. لذا استفاده از ۱/۵ میلی گرم بر میلی لیتر هورمون IAA همراه با



شکل ۳- تأثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر درصد کالوس دهی *Ferula ovina* (Tukey ($P \leq 0.05$)).

خط چین و فلش، نشان دهنده مقایسه میان میانگین ها در گروه های انتخابی است.

Figure 3- Effect of plant growth regulators on formation of callus (%) of *Ferula ovina*. Tukey ($P \leq 0.05$)
Dashed line and arrow indicate groups with significant difference in mean comparison.



شکل ۴- شاخه‌دهی کالوس *Ferula ovina* و شرایط نمونه‌ها قبل از

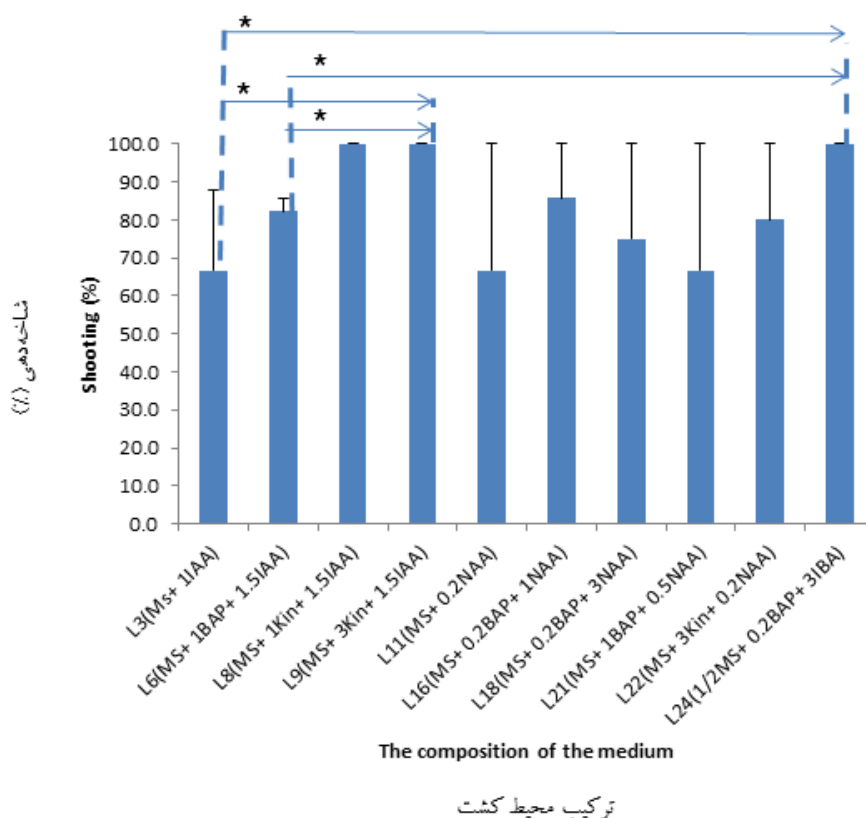
جدا نمودن کالوس و انتقال به محیط پرآوری

Figure 4- Indirect shoot regeneration *Ferula ovina* and a stage before transferring to prolific shoot bud development medium

انتخاب محیط مناسب شاخه‌دهی

ریزنمونه‌ها به محیط کشت‌های انتخابی پاسخ متفاوتی نشان دادند، به گونه‌ای که برخی از آن‌ها پس از انتقال به محیط کشت، طی باززایی مستقیم وارد شاخه‌دهی شدند در حالی که در برخی دیگر شاخه‌دهی بعد از تولید کالوس و طی باززایی غیرمستقیم مشاهده شد. شاخه‌های تولید شده از کالوس‌ها که اندازه آنها بیشتر از ۱/۵ سانتی‌متر بود از آنها جدا و در محیط کشت MS بدون هورمون، ۳۰ درصد ساکارز و ۰/۸ درصد آگار به مدت یک تا دو هفته به منظور تولید شاخه‌های بزرگ‌تر و قوی‌تر منتقل شدند (شکل ۴).

شاخه‌دهی در ۱۱ محیط کشت از میان ۲۴ محیط کشت مورد بررسی مشاهده شد. محیط‌های مؤثر شاخه‌دهی با حذف محیط‌هایی که شاخه‌دهی کمی داشتند، به لحاظ معنی‌داری مورد بررسی قرار گرفتند. محیط کشت‌های L24 و L9 نسبت به سایر محیط‌ها تفاوت معنی‌داری در درصد شاخه‌دهی نشان دادند (شکل ۵ و جدول ۳).



شکل ۵- تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد شاخه‌دهی از کالوس *Ferula ovina*

Tukey ($P \leq 0.05$)

خط چین و فلش، نشان‌دهنده مقایسه میان میانگین‌ها در گروه‌های انتخابی است.

Figure 5- Effect of plant growth regulators on adventitious shoot regeneration (%) from callus of *Ferula ovina* Tukey ($P \leq 0.05$)

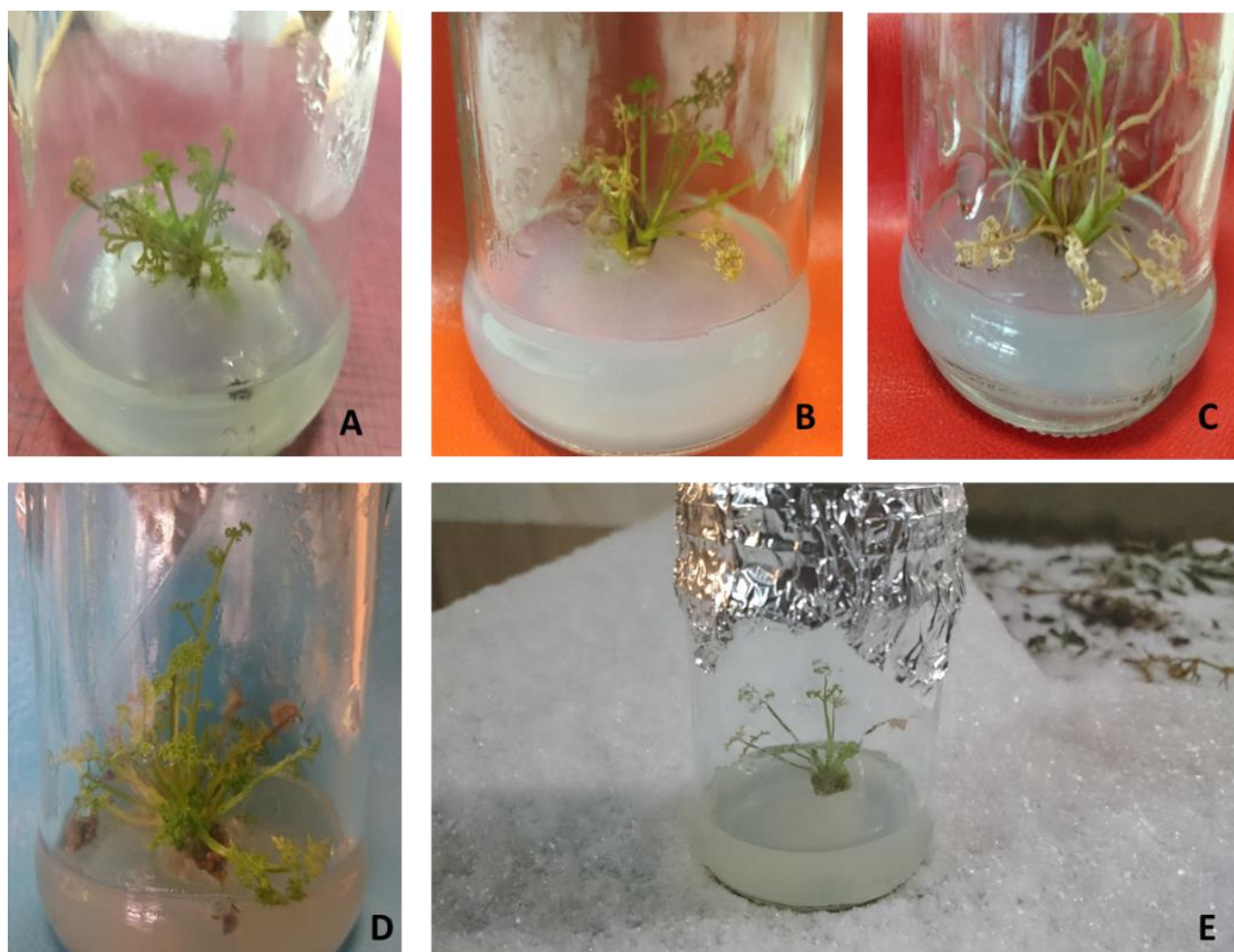
Dashed line and arrow indicate groups with significant difference in mean comparison.

اما دستیابی به ریشه‌های کشت‌بافتی در این گیاه علی‌رغم آزمودن چندین محیط ریشه‌زایی، تغییر غلظت ساکارز و نمک‌های MS، سرانجام پس از گذشت ۹ ماه میسر شد. ریشه‌دهی قابل توجه تنها در سه محیط کشت از ۱۱ محیط کشت مورد بررسی مشاهده شد. نتایج آزمون معنی‌داری نشان داد، ریشه‌زایی در محیط R6 تفاوت معنی‌داری با سایر محیط‌ها دارد (شکل ۷ و جدول ۳). سرعت رشد ریشه در این گیاه مانند سایر گیاهان عالی کم بوده و دستیابی به گیاهچه ریشه‌دار با مشکلات زیادی همراه بود.

رشد طولی شاخه‌ها در محیط L9 با ۱/۵ میلی گرم بر میلی لیتر IAA و ۳ میلی گرم بر میلی لیتر kin به اندازه‌ای متفاوت از سایر محیط‌ها بود که در مدت زمان کوتاه‌تری ظروف کشت پر می‌شدند و جداسازی شاخه‌ها و واکشت در ظروف جداگانه اجتناب‌ناپذیر بود.

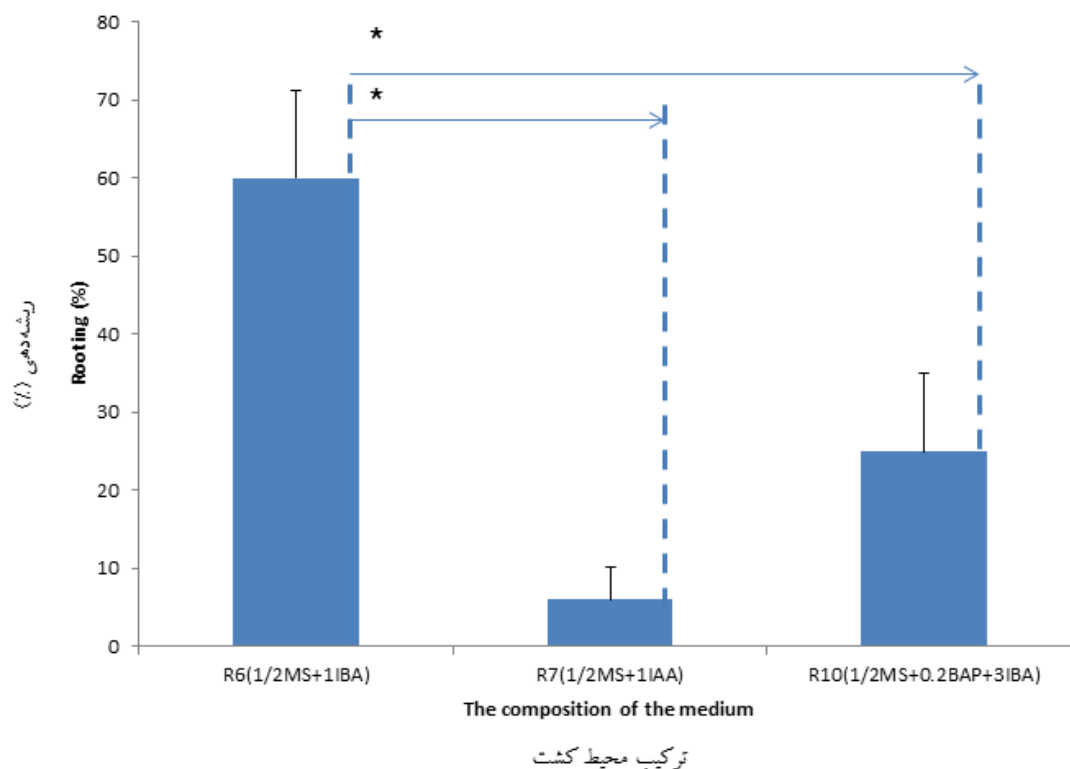
انتخاب محیط کشت مناسب ریشه‌زایی شاخه‌ها

هرچند دسترسی به نتایج موفقیت‌آمیز کشت‌بافت در کالوس‌زایی و شاخه‌دهی نمونه‌ها در گیاه کما در کمتر از سه ماه امکان‌پذیر شد،



شکل ۶- شاخه‌دهی از کالوس *Ferula ovina* در محیط کشت‌های مختلف: A شاخه‌دهی در محیط کشت، B رشد شاخه‌های جدید، C واکنش مشابه رشد طبیعی (رشد شاخه‌های جدید علی‌رغم زرد شدن شاخه‌های قبلی) در محیط کشت، D پرآوری شاخه‌ها در محیط کشت، E امکان دسترسی به شاخه‌های شاداب، ۵ ماه بعد از پایان فصل رشد با استفاده از کشت‌بافت

Figure 6- *In vitro* shoot regeneration of *Ferula ovina*: A. Shoot bud induction from green compact callus, B. Growth of new shoots in medium, C. Interaction of samples same as natural condition, D. Availability to *F. ovina* in winter via tissue culture



شکل ۷- مقایسه درصد ریشه‌زایی در محیط‌کشت‌های با بیشترین ریشه‌دهی در *Ferula ovina* Tukey ($P \leq 0.05$)

خط چین و فلش، نشان‌دهنده مقایسه میان میانگین‌ها در گروه‌های انتخابی است.

Figure 7- Effect of plant growth regulators root induction (%) by *in vitro* shoots of *Ferula ovina* Tukey ($P \leq 0.05$)

Dashed line and arrow indicate groups with significant difference in mean comparison.

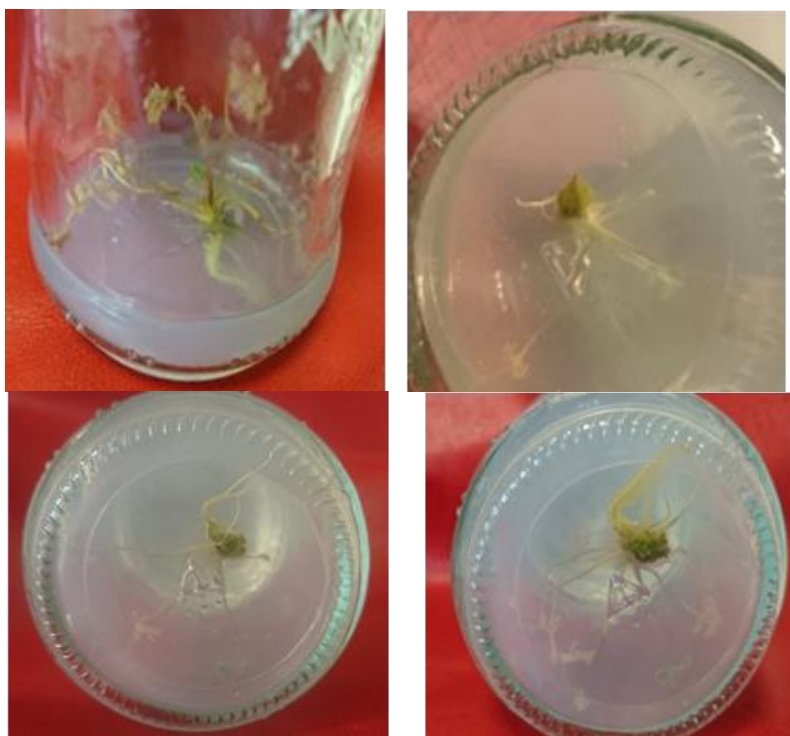
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس کالوس‌دهی، شاخه‌دهی و ریشه‌زایی *F. ovina* در شرایط درون شیشه‌ای
Table 3- Analysis of variance of *in vitro* callogenesis, shooting and root formation of *F. ovina*

	مجموع مربعات Sum of squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares	آماره F F	معنی‌داری Sig.
Callus					
Between groups	3.176	7	.454	3.414	.002
Within groups	21.530	162	.133		
Total	24.706	169			
Shoot					
Between groups	2.214	9	.246	2.336	.015
Within groups	24.005	228	.105		
Total	26.218	237			
Root					
Between groups	3.626	2	1.813	12.169	.000
Within groups	10.429	70	.149		
Total	14.055	72			

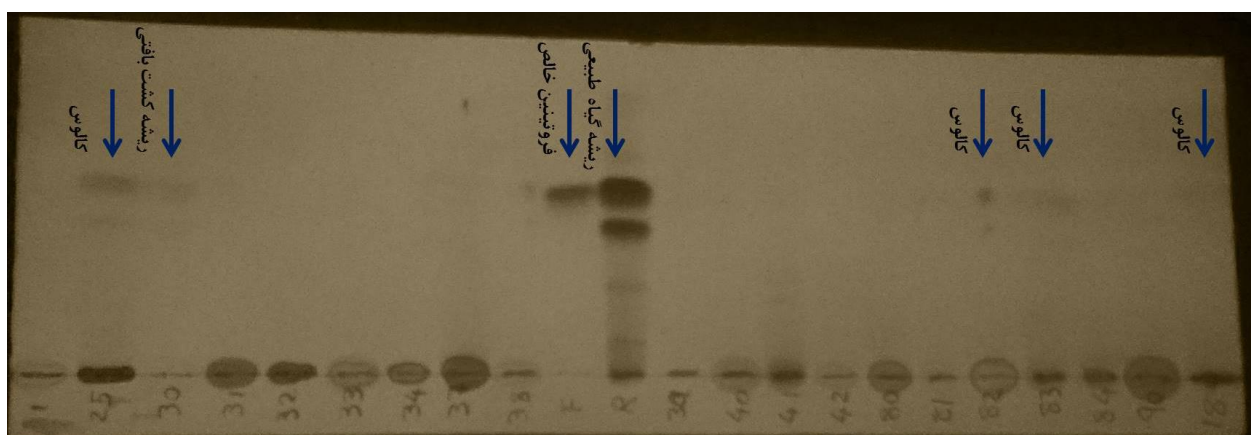
کروماتوگرافی لایه نازک

بررسی سیستم حلال‌های مختلف نشان داد سیستم حلال اتیل استات ۱ و اتر دو پترول ۲ در لکه‌گذاری با استفاده از اتیل استات بهترین نتیجه را به همراه دارد. زیرا در این سیستم حلال باندها در قسمت میانی تشکیل می‌شود. در بررسی تشکیل باند در مقایسه با عصاره ریشه گیاه طبیعی و فروتینین خالص (شکل ۹)، نمونه‌هایی با نتیجه TLC مشابه عصاره ریشه کما و فروتینین مشاهده شد.

علی‌رغم تولید ریشه در برخی از نمونه‌های شاخه کشت بافتی، ریشه‌های حاصل از باززایی غیرمستقیم بسیار ظریف، شکننده و حساس بودند (شکل ۸). دستیابی به گیاهچه استریل ریشه‌دار با توجه به نتایج این پژوهش امکان‌پذیر شد. اگرچه سازگاری گیاه با شرایط محیطی و تولید انبوه این گیاه جزء اهداف پژوهش نبود، اما نتایج این بخش می‌تواند راهگشای پژوهش‌های با هدف تولید انبوه این گیاه باشد.



شکل ۸- روند رشد ریشه *Ferula ovina* در شرایط درون شیشه‌ای
Figure 8- In vitro root growth trend of *Ferula ovina*



شکل ۹- نتایج TLC و مشاهده باند مشابه عصاره پودر ریشه گیاه طبیعی *Ferula ovina* و فروتینین خالص (۹۸ درصد) در بعضی از نمونه‌های کشت بافتی

Figure 9- TLC results of samples in compare to root extract of natural *Ferula ovina* and purified ferutinin (98%)

نتیجه‌گیری

بر اساس بررسی‌های انجام شده بر روی ادبیات موضوع، تاکنون مطالعه‌ای در این حوزه با استفاده از گیاه کما انجام نشده است تا بتوان نتایج مطالعه حاضر را با آن‌ها مقایسه کرد. بررسی قابلیت نگهداری درون شیشه‌ای گیاه کما نشان داد امکان نگهداری شاخه‌های حاصل از کشت بافت در محیط‌کشت‌های مذکور به مدت یک سال در اتاق رشد وجود دارد که نتایجی بهتر و بسیار گسترده‌تر از نتایج هادی و همکاران (۱۱) بر روی باریجه به عنوان یکی از گیاهان نزدیک به کما را به همراه داشت.

یکی از نتایج پژوهش حاضر دستیابی به محیط‌کشت ویژه L24 دارای ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۳ میلی‌گرم بر لیتر IBA است که تولید کالوس از ریزنمونه‌های محل اتصال ساقه به ریشه، شاخه‌دهی از کالوس و ریشه‌زایی شاخه‌ها را تنها با استفاده از یک ترکیب هورمونی فراهم می‌آورد. علاوه بر این، محیط‌کشت L6 (۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP) در تولید کالوس‌های سبز فشرده بزرگ، محیط‌کشت L9 (۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IAA و ۳ میلی‌گرم بر لیتر Kin) در تولید شاخه‌های بلند و شاداب با ترکیب و محیط‌کشت R6 (۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA) در تولید ریشه در شرایط درون شیشه‌ای با اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) با سایر

منابع

- 1- Amooaghaie R. 2009. The Effect Mechanism of Moist-Chilling and GA3 on Seed Germination and Subsequent Seedling Growth of *Ferula ovina* Boiss. The Open Plant Science Journal, 3: 22-28.
- 2- Ansari N., Fayaz M., and Ghasemi M.H. 2009. Estimate of Iran-Turanian zone rangelands degradation rate by measuring and suggestion Index. Iranian Journal of Range and Desert Research, 16(3): 293-304. (In Persian)
- 3- Arnoldi L., Ballero M., Fuzzati N., Maxia A., Mercalli E., and Pagni L. 2004. HPLC-DAD-MS identification of bioactive secondary metabolites from *Ferula communis* roots. Fitoterapia, 75(3): 342-354
- 4- Azhir F., and Shahmoradi A. 2007. Autecology of *Ferula ovina* Boiss. In Tehran Province Iranian Journal of Range and Desert Research, 14(3): 359-367. (In Persian)
- 5- Bernard F., Shaker Bazarnov H., Javadi Khatab L., Shafiei Darabi A., and Sheidai M. 2007. *Ferula gummosa* Boiss, Embryogenic culture and karyological changes. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(12): 1977-1983.
- 6- Cavani F., Ferretti M., Carnevale G., Bertoni L., Zavatti M., and Palumbo C. 2012. Effects of different doses of ferutinin on bone formation/resorption in ovariectomized rats. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 30(6): 619-629.
- 7- Fahsi M., and Tavakkol Afshari R. 2018. The morphophysiological dormancy of *Ferula ovina* seeds is alleviated by low temperature and hydrogen peroxide. Seed Science Research, 28(1): 52-62.
- 8- Ferretti M., Bertoni L., Cavani F., Zavatti M., Resca E., Carnevale G., Benelli A., Zanolli P., and Palumbo C. 2010. Influence of ferutinin on bone metabolism in ovariectomized rats. II: Role in recovering osteoporosis. Journal of Anatomy, 217(1): 48-56.
- 9- Ferretti M., Cavani F., Bertoni L., Zavatti M., Taronna A., Carnevale G., Benelli A., Zanolli P., Marotti G., Palumbo C. 2010. New aspects of Ferutinin effect in preventing osteoporosis. Italian Journal of Anatomy and Embryology, Vol 115(1/2).
- 10- Ghasemi S., Heidary M., Rezaalizadeh Rooshan F., and Habibi Z. 2013. New Monoterpene Ester Derivative from Aerial Parts of *Ferula Ovina* Boiss. 2nd National Congress on Medicinal Plants. Tehran- Iran.
- 11- Hadi N., Omidbaigi R., and Moeinei A. 2011. *In vitro* conservation of *Ferula gummosa* germplasm and its callus induction. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 19(1): 38.
- 12- Iranshahi M., Famili A., Basarlv C., and Pyasnlv S. 2009. Purification and determination of compounds in *Ferula ovina* Boiss. roots. Journal of Medicinal Plants, 9(36): 72-80. (In Persian)

سپاسگزاری

احتراما از گروه کشت بافت گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، گروه فارماکوتوزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و دکتر برایان ایمز از دانشکده پزشکی دانشگاه ساسکچوان کانادا تشکر و قدردانی می‌گردد.

- 13- Mozaffarian V. 1996. Dictionary of Iranian Plant Names; Farhang Moaser publishers, Tehran, Iran.
- 14- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473- 497.
- 15- Omid M., and Farzin N. 2012. Biotechnology Approaches for improvement of medicinal plants. *Modern Genetics Journal.* 7(3): 209-220.
- 16- Palumbo C., Ferretti M., Bertoni L., Cavani F., Resca E., Casolari B., Carnevale G., Zavatti M., Montanari C., Benelli A., and Zanolli P. 2009. Influence of ferutinin on bone metabolism in ovariectomized rats. I: role in preventing osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 27(5): 538-545.
- 17- Rahnama-Ghahfarokhi A., and Tavakkol-Afshari R. 2007. Methods for Dormancy Breaking and Germination of Galbanum Seeds (*Ferula gummosa*). *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(4): 611-616.
- 18- Tabrizi L., and Koocheki A.R. 2014. Medicinal Plants Ecology, Production and Sustainable Utilization. University of Tehran. (In Persian)
- 19- Zanolli P., Zavatti M., Geminiani E., Corsi L., and Baraldi M. 2009. The phytoestrogen ferutinin affects female sexual behavior modulating ER α expression in the hypothalamus. *Behavioural Brain Research*, 199(2): 283-287.
- 20- Zavatti M., Benelli A., Montanari C., and Zanolli P. 2009. The phytoestrogen ferutinin improves sexual behavior in ovariectomized rats. *Phytomedicine*, 16(6): 547-554.



***In Vitro* Achievement of Ferutinin from Root of *Ferula ovina* with Emphasis on Germplasm Resources Conservation**

H. Zare Mirakabad¹- M. Farsi^{2*}- S. Malekzadeh Shafaroudi³- M. Iranshahi⁴-
A. Bagheri⁵- N. Moshtaghi⁶

Received: 27-06-2018

Accepted: 12-08-2018

Introduction: There is a growing body of the literature that recognizes the importance of ferutinin ($C_{22}H_{30}O_4$) as one of the natural phytoestrogens with potency to treat osteoporosis and some kind of cancers. One of the greatest challenges is availability of ferutinin that is found just in root of some plants of the genus *Ferula* (Apiaceae), which is the reason of high price of it in global markets. *Ferula ovina*, an endemic plant of Iran, is known as one of the greatest sources of ferutinin. Unfortunately, access to ferutinin requires uprooting *Ferula ovina* especially older plants with more secondary metabolites content. There is a large volume of published studies describing the importance of tissue culture in propagation of endangered plants including secondary metabolites without possibility of chemical production and with deep dormancy seed exactly like the characters of *F. ovina*. Up to now, far too little attention has been paid to importance of tissue culture in accessing ferutinin without degrading the germplasm resources of it. The main aim of this study was to find an approach to access ferutinin associated *F. ovina* germplasm conservation.

Materials and Methods: In this experiment, the aerial parts of *F. ovina* were collected from Zoshk area (Mashhad, Iran). The plants were recognized as *F. ovina* by the Institute of Plant Sciences (Ferdowsi University of Mashhad). Tissue culture part was performed with preparation of sterilized media and explants. Therefore, the MS salts and vitamins was applied as basic medium, however MS salt was decreased to half strength for rooting of shoots. The node (root junction) explants were cultured on 24 callus induction/shooting media with different combinations of plant growth regulators (BAP, IAA, Kin, NAA and IBA). The shoots from direct and indirect regeneration were then transferred to media with different combinations of PGRs (BAP, IBA, IAA and NAA) in order to find rooting medium. Following these treatments, unbalanced ANOVA for analysis of data were performed using IBM SPSS 19. The final stage of the study comprised a TLC test for the purpose of finding ferutinin in samples which resulted from tissue culture. For this purpose, air-dried parts of samples were powdered and extraction was done after being in 3-5 times dichloromethane for 24hours. Then after optimizing solvent system was done with selection the ratio that presented bands in middle of TLC paper.

Results and Discussions: The results indicated that from 24 tested media, just 8 of them had potency of callus formation, but just L6 on MS medium containing 1 mg/l BAP and 1.5 mg/l IAA showed significant difference for percentage of callus induction at 5% level with compact green and the heaviest calluses. Although direct and indirect shoot regeneration was observed in this study, L9 on MS medium along with 1.5 mg/l IAA and 3 mg/l kin demonstrated significant difference for percentage of shooting at 5% level. Moreover, R6 on ½MS with 1 mg/l IBA showed significant difference for percentage of rooting of shoots at 5% level. The most surprising observation to emerge from the data comparison was L24 on half strength MS medium containing 0.2 mg/l BAP and 3 mg/l IBA with potency of callus induction, shooting and rooting of shoots. Regarding to the results of TLC test, ferutinin positive bands were observed in some samples.

Conclusions: The aim of the present research was to examine possibility of achieving ferutinin without need to uproot *F. ovina* because there are several problems to achieve this valuable sesquiterpene: 1) Chemical production of ferutinin is impossible, 2) It could be accessible just from roots of genus *Ferula*, 3) Propagation with seeds of *F. ovina*

1, 2, 3, 5 and 6- Ph.D. of Agricultural Biotechnology, Professor, Associate Professor, Professor and Associate Professor Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, Respectively

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

4- Professor of Department of Pharmacognosy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

is limited because of morphophysiological dormancy of them, 4) Natural habitat of this plant in Iran is going to be destructed, 5) Access to natural habitat is difficult, 6) Time of access is limited with short growth season, 7) Maintaining *F. ovina* in greenhouse condition is impossible. The results of this research support the idea that producing ferutinin in Iran without any harmful effect on germplasm resources of *F. ovina* is possible. This is the first study of high scale commercial production of ferutinin which examine associations between tissue culture and ferutinin production.

Keywords: *Ferula ovina*, Ferutinin, Germplasm resources conservation, Thin Layer Chromatography, Tissue culture



پراوری درون شیشه‌ای، ریشه‌زایی و افزایش سازگاری گیاهچه‌های گلابی نطنزی (*Pyrus communis* cv. Natanzi) به کمک قارچ میکوریزا

عظیمه حاجی صادقیان نجف‌آبادی^۱ - ایمان روح‌اللهی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۷

چکیده

گلابی نطنزی از ارقام مهم گلابی بومی ایران است. ریزازدیادی امکان تولید گیاهچه‌های یکسان و مشابه مادری را فراهم خواهد نمود. پژوهش حاضر طی سه آزمایش برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی درون شیشه‌ای و سازگاری ریزنمونه‌ها با محیط بر اساس آزمون فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. جهت تحریک شاخه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوک تحت تأثیر چهار سطح از تنظیم کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین^۳، ایندول-۳-بوتیریک اسید^۴ IBA، همچنین جیبرلیک اسید^۵ مورد استفاده قرار گرفت. گیاهچه‌ها در محیط MS و MS با نصف غلظت عناصر ماکرو و میکرو، در حضور چهار سطح از اکسین‌های IBA و نفتالین استیک اسید^۶ تحت دو تیمار تاریکی و روشنایی ریشه‌دار شدند. سازگاری و بقا، درصد کلونیزاسیون میکوریزا، غلظت فسفر و برخی خصوصیت‌های مورفولوژیکی ریشه از قبیل میانگین قطر و تعداد ریشه گیاهچه‌ها به کمک دو گونه قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و *G. intraradices* در دو بستر پیت‌ماس - پرلیت و کوکوپیت - پرلیت مورد آزمون قرار گرفت. بیشترین شاخه‌زایی در برهم‌کنش بین غلظت سه میلی گرم در لیتر BAP به همراه نیم میلی گرم در لیتر IBA و بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی در تیمار محیط MS کامل حاوی نیم میلی گرم در لیتر NAA مشاهده گردید. ۱۰۰ درصد گیاهچه‌های ریشه‌دار شده با محیط سازگار شدند. غلظت فسفر در بستر پیت ماس، میانگین قطر ریشه در حضور قارچ *G. mosseae* در بستر پیت ماس و تعداد ریشه در بستر کوکوپیت افزایش نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، سازگاری، قارچ همزیست ریشه، گلابی

مقدمه

اروپایی^۷ با بافت ترد و آبدار؛ با کیفیت خوراکی خوب و با خاصیت حمل و نقل و انبارداری زیاد می‌باشد که در اواخر پاییز و اوایل زمستان به بازار عرضه می‌گردد (۱۴ و ۲۲). بیشتر درختان میوه به خوبی از طریق بذر تکثیر نمی‌شوند و نمی‌توان آن‌ها را به راحتی از طریق روشی (روش خوابانیدن و قلمه گرفتن) تکثیر کرد (۱). معمولاً گونه‌های گلابی درختانی سخت‌ریشه‌زا هستند (۹). مهم‌ترین پایه‌های گلابی پایه‌های بذری و اصلاح‌شده به، گلابی و گونه‌های دیگر سازگار با گلابی می‌باشند (۳۸ و ۱). مهم‌ترین مزیت روش ریزازدیادی سرعت آن نسبت به روش‌های تکثیر سنتی است که در نتیجه می‌توان از یک قطعه کوچک گیاه مادری به تعداد زیادی گیاه مشابه دست یافت. تکثیر از طریق کشت بافت برای گیاهانی که تکثیر روشی سختی دارند، گیاهان پر محصول یا مقاوم به بیماری‌ها، گیاهانی که تکثیر زایشی باعث کاهش سرعت تکثیر به علت تنوع ژنتیکی شده و همچنین برای جلوگیری از انتقال بیماری‌های گیاهی

خاستگاه گلابی نطنزی^۸ به عنوان یکی از ارقام مهم تجاری با کیفیت و خوش طعم و عطر بومی ایران (۲۲)، روستای طامه از توابع شهرستان نطنز (استان اصفهان) می‌باشد. پیری درختان و کاهش باردهی، افزایش ساخت و سازها در زمین‌های کشاورزی، بی‌توجهی به این ژنوتیپ ارزشمند و روی‌آوری به مشاغل صنعتی از تهدیدات جدی انقراض این درخت بومی می‌باشد. این رقم از گروه گلابی‌های

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد

(* - نویسنده مسئول: Email: i.rohollahi@shahed.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.72622

3- Indole-3-Butyric Acid (IBA)

4- Gibberellic Acid (GA₃)

5- Naphthalene Acetic Acid (NAA)

6- *Pyrus communis* CV. Natanzi

همراه با کاهش محتوی فسفر بستر و افزایش شدت کلونیزاسیون قارچ با ریشه بود (۳۱).

در این آزمایش به منظور تسریع تکثیر و دستیابی به پروتکل تکثیر و ریشه‌زایی درون شیشه‌ای گلابی نطنزی گونه‌ای منحصر به فرد، در خطر انقراض و بومی ایران بعد از بررسی تأثیر چهار غلظت مختلف هورمون‌های IBA×BAP و GA₃×BAP بر شاخه‌زایی و استفاده از NAA و IBA بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های گلابی نطنزی، تأثیر قارچ همزیست مایکوریزا به عنوان عامل مؤثر جهت بهبود رشد و نمو و توسعه ریشه گیاهان همچنین جذب فسفر و در نهایت افزایش سازگاری و زنده‌مانی گیاهچه‌های کشت بافتی با شرایط برون شیشه مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ریزنمونه‌های گلابی نطنزی از روستای طامه در شهرستان نطنز به ترتیب با عرض و طول جغرافیایی ۳۳°۲۸' و ۵۱° ۵۳' از درختی سالم در همان روز انجام کشت بافت تهیه شدند.

آزمایش اول: شاخه‌زایی

جهت تحریک شاخه‌زایی طی دو آزمایش مستقل بر اساس آزمون فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی برای هر تیمار سه تکرار و در هر تکرار سه ریز نمونه محیط‌های جامد پراوری MS کامل با غلظت‌های مختلف مواد تنظیم کننده رشد از قرار زیر آماده شد؛ یکی از آزمایش‌ها شامل چهار غلظت فاکتور BAP (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر) تحت تأثیر چهار غلظت فاکتور GA₃ (صفر، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) و آزمایش مستقل دیگر نیز از فاکتور BAP با همان غلظت‌ها و چهار غلظت فاکتور IBA (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) استفاده شد. پس از کشت ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد به اتاقک رشد با دمای ۲۴±۲°C، رطوبت ۶۰±۲ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور سفید ۴۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه منتقل شدند. بعد از شش هفته میزان شاخه‌زایی ثبت گردید.

آزمایش دوم: ریشه‌زایی

در مرحله ریشه‌زایی ابتدا گیاهچه‌ها سه هفته در محیط MS بدون تنظیم کننده‌های رشد کشت شدند. بعد از این مرحله گیاهچه‌ها بر اساس آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به محیط جامد ریشه‌زایی انتقال داده شدند. فاکتور اول محیط IBA در چهار غلظت (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) و فاکتور دوم محیط NAA در چهار غلظت (صفر، ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) در دو محیط MS و ½MS انتقال داده شدند. سپس هر تیمار در دو مکان تاریک و

که با روش سنتی تکثیر منتقل می‌شوند را می‌توان پیشنهاد نمود (۱۰). استفاده از روش‌های سنتی تکثیر وقت گیر و کم بازده می‌باشد. از این رو بهتر است برای تثبیت صفات زراعی مطلوب، همسان‌سازی و دستیابی به تعداد زیادی گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان در مقیاس وسیع از روش کشت بافت استفاده شود که ضمن کاهش هزینه‌های تولید امکان برنامه ریزی از نظر زمان‌بندی و تعداد تولیدات را دارا می‌باشد (۱۰).

محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (۲۳) توسط بیش‌تر پژوهشگران در ریزازدیادی گلابی مورد استفاده قرار گرفته است (۳۴ و ۲۸). بیش‌تر پژوهشگرانی که روی گلابی کار کرده‌اند، از سایتوکاینین BAP برای پراوری استفاده نموده‌اند (۳۴، ۲۸ و ۴). ریشه‌زایی در شرایط کشت بافت امری وابسته به ژنوتیپ است که برای ریشه‌زایی از اکسین‌ها و غلظت‌های مختلف آن برحسب شرایط متفاوت بافت و محیط استفاده می‌شود (۲۱). استفاده از اکسین‌های IAA، NAA، IBA موجب ریشه‌زایی شاخساره‌های گونه *syriaca* در شرایط درون شیشه‌ای می‌شوند (۳۴). اثر مثبت تاریکی در القای ریشه‌زایی سیب و گلابی توسط اکثر محققان مورد مطالعه قرار گرفته است (۳، ۵، ۱۵، ۳۶ و ۳۷). گونه *P. elaeagnifolia* در محیط واجد IBA (۱/۵ میلی گرم در لیتر) و محیط ½ موراشیگ و اسکوگ و تیمار ۱۰ روز تاریکی ۵۴ درصد ریشه‌زایی به همراه داشته است (۲).

از مشکلات تولید گیاهان از طریق ریزازدیادی مرحله سازگاری گیاهچه‌های خارج شده از شرایط درون شیشه است. بقاء کم و رشد ضعیف گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در شرایط درون شیشه‌ای پس از انتقال به محیط، استفاده از کشت بافت را محدود می‌کند. عوامل زیستی مانند قارچ‌های همزیست ریشه می‌تواند باعث افزایش موفقیت این روش گردد. قارچ‌های مایکوریزا داخلی قارچ‌هایی از راسته Glomales و شاخه Glomeromycota می‌باشند. این قارچ‌ها یکی از فراوان‌ترین قارچ‌ها در طبیعت هستند و در اکثر گیاهان دیده می‌شوند (۳۲). همه اعضای این شاخه همزیست‌های اجباری گیاهان هستند (۲۵). قارچ‌های مایکوریزا معمولاً جذب عناصر آهن، منگنز، کلسیم، منیزیم، پتاسیم، فسفر و نیتروژن را افزایش می‌دهد و بیشتر از همه باعث افزایش جذب فسفر در گیاه می‌شود (۳۵). تلقیح گیاهان ریزازدیادی در هنگام سازگاری با محیط بیرون باعث افزایش مقاومت گیاه و افزایش جذب عناصر از بستر و بهبود ویژگی‌های تجاری می‌شود (۶ و ۲۰). در پایه‌های هم گروه گلابی (OH×F51)، تحریک رشد و افزایش جذب فسفر، عناصر محلول در آب و مقاومت به تنش‌های هنگام سازگاری در گیاهان تلقیح شده با قارچ *Glomus* spp. نسبت به شاهد گزارش شده است (۳۱). پایه‌های ریزازدیاد شده سیب در طول مرحله سازگاری در بسترهای غنی از مواد غذایی بعد از ۱۱۲ روز از تلقیح ریشه‌ها افزایش رشد را نشان دادند این افزایش رشد

مختلف IBA×BAP و GA₃×BAP بر میانگین شاخه‌زایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. در برهم‌کنش GA₃×BAP بهترین شاخه‌زایی در حضور BAP با غلظت سه میلی‌گرم در لیتر و GA₃ با غلظت یک دهم میلی‌گرم در لیتر ثبت گردید (شکل ۱-a). تأثیر مثبت استفاده هم‌زمان از GA₃ و BAP برای شاخه‌زایی گلابی سبری (۱۸) و پ (۸) گزارش شده است. در آزمایش انجام شده بر گونه گلابی نطنزی با افزایش غلظت BAP تعداد شاخه‌زایی افزایش و طول شاخه‌ها کاهش یافت. در موارد معدود نیز تغییر شکل برگ و شاخه مشاهده شد. در پژوهش انجام گرفته توسط شن و مولینز (۳۳) کاهش کیفیت گیاهچه‌ها و نابودی آن‌ها در طی واکنش به دلیل استفاده از غلظت‌های بالای BAP گزارش شده است. هم‌چنین در مورد گونه *P. calleryana* (۵) و *P. syrica* (۳۳) با افزایش غلظت BAP افزایش میزان شاخه‌زایی در محیط کشت، زردی، ریزش، تغییر شکل برگ، کاهش طول و از بین رفتن نمونه‌ها نیز گزارش شده است. نتیجه آزمایش در مورد گلابی نطنزی بیان‌گر استفاده از BAP با غلظت سه میلی‌گرم در لیتر به عنوان بهترین غلظت تنظیم‌کننده رشد مؤثر بر میانگین شاخه‌زایی بود (شکل ۱). در گلابی سبری نیز غلظت بالاتر از دو میلی‌گرم در لیتر BAP برای شاخه‌زایی مناسب گزارش شده است (۱۸) که با نتایج تحقیق انجام شده مطابقت دارد. در این پژوهش در محیط فاقد BAP شاخه‌زایی مشاهده نشد (شکل ۱-a). پژوهش انجام گرفته در مورد پایه گلابی OH×F33 عدم شاخه‌زایی را در محیط فاقد سایتوکنین گزارش نموده است (۷). مقایسه تعداد جوانه جانبی تیمار غلظت‌های مختلف IBA×BAP بر شاخه‌زایی گلابی نطنزی نشان داد که شاخه‌زایی در محیط کشت حاوی BAP با غلظت سه میلی‌گرم در لیتر به همراه IBA با غلظت نیم میلی‌گرم در لیتر به نحو معنی‌داری بیشتر بوده است (شکل ۱-b). استفاده از ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد BAP×IBA در محیط کشت گونه سبری (۱۸)، *P. elaeagnifolia* (۲) و *P. boissieriana* (۴۰) در مرحله استقرار و شاخه‌زایی نیز موفقیت‌آمیز گزارش شده است.

ریشه‌زایی

غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر تیمار IBA در محیط کشت MS کامل و محیط تاریکی و در ۱/۲MS و محیط روشنائی به ترتیب با ۵۶ درصد و ۴۱ درصد ریشه‌زایی به عنوان بهترین غلظت برای IBA ثبت گردید (جدول ۲). هم‌چنین در محیط کشت MS کامل و ۱/۲MS غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تیمار NAA در هر دو محیط روشنائی و تاریکی با ۵۸ درصد به عنوان بهترین غلظت ریشه‌زایی برای NAA ثبت گردید (جدول ۲).

روشن در اتاقک رشد با دمای ۲۴±۲°C، رطوبت ۶۰±۲ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنائی با شدت نور سفید ۴۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه قرار داده شدند. هدف از ایجاد شرایط روشنائی و تاریکی بررسی تأثیر نور بر میزان ریشه‌دهی بود. بعد از گذشت شش هفته درصد گیاهچه‌های ریشه‌دار شده ثبت شد.

آزمایش سوم: سازگاری

در مرحله سازگاری ریزنمونه‌های تولید شده از محیط جامد MS کامل حاوی غلظت سه میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه نیم میلی‌گرم در لیتر IBA و سپس ریشه‌دار شده در محیط MS کامل حاوی نیم میلی‌گرم در لیتر NAA از محیط کشت درون شیشه جدا و بعد از شستن تمامی آگار چسبیده به ریشه به محیط خارج از شیشه منتقل شدند. به این منظور از دو بستر پیت‌ماس و پرلیت (۱:۱) و کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) استریل شده توسط اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد با فشار ۱/۲ اتمسفر و لیوان‌های یک‌بار مصرف درپوش‌دار جهت سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده، استفاده شد. تلقیح هر ۵۰ گرم بستر با استفاده از ۱۰ گرم آمیخته خاکی حاوی ۳۰۰ تا ۴۰۰ اسپور قارچ گونه *G. intraradices* و *G. mosseae* یک سانتی‌متر زیر ریشه استفاده شد. گیاهچه‌ها در شرایط کنترل شده نوری، دمایی و رطوبت قرار داده شدند و بعد از مدت هشت هفته گیاهچه‌ها از بستر خارج شدند. ویژگی‌های مورفولوژیکی ریشه گیاهان از قبیل میانگین قطر ریشه (سانتی‌متر)، تعداد ریشه، طول مخصوص ریشه^۱ (مجموع طول ریشه‌ها تقسیم بر حجم سیستم ریشه) (سانتی‌متر بر سانتی‌متر مکعب)، نسبت عرض به عمق (سانتی‌متر بر سانتی‌متر) توسط نرم‌افزار GiA Roots مورد بررسی قرار گرفت. میزان جذب عنصر فسفر با استفاده از روش رنگ سنجی اندازه‌گیری شد (۱۹). ۲۰ عدد از نوک ریشه‌های دانه‌ال‌های سازگار شده با استفاده از روش تغییر یافته فیلیپس و هایمن (۲۶) رنگ‌آمیزی و درصد کلونیزاسیون ثبت و بین تیمارها مقایسه گردید.

نتایج حاصل از این آزمایش به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مرحله شاخه‌زایی با دو آزمایش مستقل IBA×BAP و GA₃×BAP و در مرحله ریشه‌زایی با دو فاکتور IBA و NAA انجام شد. توسط نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD صورت گرفت. نمودارها در نرم‌افزار اکسل رسم گردید.

نتیجه‌گیری و بحث

شاخه‌زایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد برهم‌کنش غلظت‌های

1- Specific root length (SRL)

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات IBA×BAP، GA₃×BAP بر شاخه‌زایی ریزنمونه‌های گلابی نطنزی

Table 1- ANOVA of BAP×IBA، BAP×GA₃ effects on the shoot proliferation of Natanzi pear

منبع تغییرات Source of variation	میانگین مربعات Mean of squares	
	تعداد جوانه جانبی Number of lateral branches	درجه آزادی df
BAP	89.93**	3
GA ₃	5.09**	3
BAP×GA ₃	5.75**	9
BAP×IBA	9.37**	9
خطای آزمایش Error	0.61	32
ضریب تغییرات Coefficient of variations (%)	21.88	

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

**Significant at 1% probability level

جدول ۲- درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌های گلابی نطنزی در دو محیط کشت MS و ½MS تحت شرایط تاریکی و روشنایی

Table 2- Rooting percentage of Natanzi pear explants in MS and ½MS medium under dark and light conditions

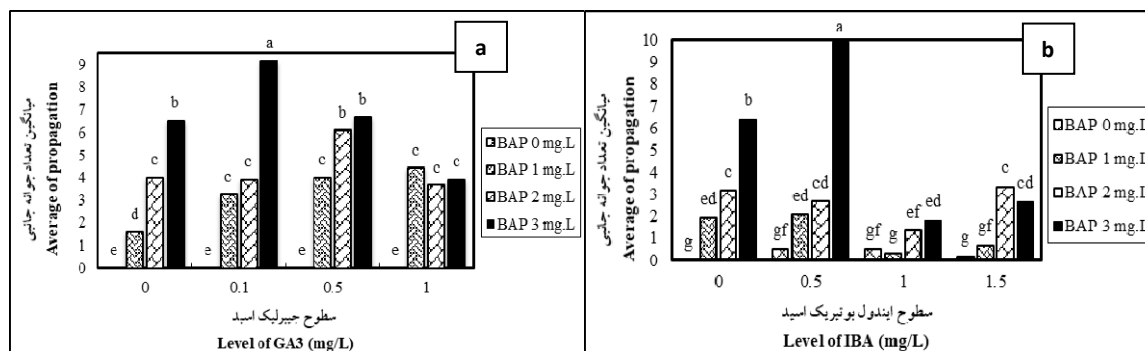
محیط کشت Medium	نور Light	IBA (mg.L)	ریشه‌زایی Rooting (%)	NAA (mg.L)	ریشه‌زایی Rooting (%)
MS	+	0	00.00	0	00.00
		0.5	25.00	0.1	12.50
		1	33.33	0.3	23.07
		1.5	58.33	0.5	25.00
		Total treatments کل تیمار**	37.5	Total treatments کل تیمار	19.50
	-	0	00.00	0	00.00
		0.5	00.00	0.1	31.25
		1	6.25	0.3	37.50
		1.5	8.33	0.5	56.25
		کل تیمار	7.50	کل تیمار	41.66
½MS	+	0	8.33	0	8.33
		0.5	12.50	0.1	00.00
		1	37.50	0.3	33.33
		1.5	6.25	0.5	41.66
		Total treatments کل تیمار	18.75	Total treatments کل تیمار	37.50
	-	0	00.00	0	00.00
		0.5	6.25	0.1	41.66
		1	31.25	0.3	25.00
		1.5	58.33	0.5	33.33
		Total treatments کل تیمار	27.08	Total treatments کل تیمار	33.33

+ و - به ترتیب وجود و عدم وجود نور می‌باشد.

+ And - Respectively means with and without light

*درصد در هر غلظت حاصل تقسیم مشاهدات ریشه‌دار شده هر غلظت به کل مشاهدات آن تیمار می‌باشد.

*Percentage in each concentration comes from division of rooted observations of each hormone concentration into total observations of treatment.



شکل ۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف $GA_3 \times BAP$ (a) و $IBA \times BAP$ (b) بر شاخه‌زایی ریزنمونه‌های گلابی نطنزی با استفاده از آزمون LSD ($\alpha = 0.01$)

Figure 1- Compares the average levels of $BAP \times GA_3$ (a) and $BAP \times IBA$ (b) on shoot proliferation of Natanzi pear using LSD Test ($\alpha = 0.01$)

در بستر پیت ماس اختلاف معنی‌داری در طول مخصوص ریشه مشاهده نشد (شکل ۲-۳). بستر کوکوپیت شاهد بیشترین نسبت سطح به عمق ریشه را نشان داد. بستر کوکوپیت باعث پخش شدن سطحی ریشه‌ها و کاهش عمق نفوذ ریشه شده است (شکل ۲-۴). به کمک قارچ میکوریزا تعداد و طول مخصوص ریشه افزایش نشان داد. سیستم ریشه‌ای گسترده، افزایش قدرت نفوذ و افزایش سطح ریشه در گلابی نطنزی در بستر پیت ماس به کمک قارچ همزیست مشاهده شد (شکل ۲-۴ تا ۲-۵). بهبود سیستم ریشه‌ای با کمک قارچ میکوریزا توسط محققان گزارش شده است (۲۴، ۲۷ و ۲۹).

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) اثر متقابل معنی‌داری بین بستر و نوع قارچ بر میزان غلظت فسفر برگ در سطح احتمال یک درصد را نشان می‌دهد، همچنین بیانگر اثر معنی‌دار درصد کلونیزاسیون بین تیمار قارچ میکوریزا در سطح احتمال یک درصد می‌باشد. برخلاف گزارش افزایش جذب عناصر به ویژه فسفر در خاک‌های آلوده به قارچ میکوریزا (۱۶ و ۱۷)، در گیاهچه‌های گلابی نطنزی میزان فسفر تیمار شاهد در بستر پیت ماس به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها ثبت گردید (شکل ۳-۳). تفاوت معنی‌دار کلونیزه شدن همه تیمارهای آلوده شده با قارچ در گلابی نطنزی و تیمار شاهد مشهود است (شکل ۳-۴). آلوده شدن تمام گیاهچه‌های پایه سیب MM106 تحت تیمار قارچی نیز گزارش شده است (۳۱). نتایج غلظت فسفر برگ و درصد کلونیزاسیون ریشه (شکل ۳-۵ و ۳-۶) نشان می‌دهد که ارتباط معنی‌داری بین غلظت فسفر و درصد کلونیزاسیون وجود نداشت. معنی‌دار نبودن میزان غلظت فسفر و درصد کلونیزاسیون ریشه گلابی نطنزی مطابق با گزارش ارائه شده در پایه‌های سیب M9 و M26 (۱۳) بود.

نتایج مشاهده شده در مورد ریشه‌زایی گلابی نطنزی با استفاده از محیط کشت MS، تیمار IBA و تاریکی همسو با گزارش در مورد گونه *P. elaeagrifolia* (۲) و پایه‌های گلابی (۳۹) می‌باشد. مشاهده‌های حاصل از آزمایش ریشه‌زایی گلابی نطنزی تولید کالوس را مانع از ریشه‌زایی بیان نکرد. تأثیر مثبت کالوس‌زایی در تیمارهای NAA و IBA بر ریشه‌زایی گلابی ویلیامز و بوره بوس (۳۳) بیان شده است. مشاهدات در مورد گلابی نطنزی NAA را مناسب‌تر از IBA برای ریشه‌زایی نشان داد؛ ریشه‌های حاصل از تیمار IBA قطور، کوتاه، منشعب و پنجه‌ای و ریشه‌های حاصل از تیمار IBA بلند، رشته‌ای و ظریف بودند. در طول سازگاری هیچ تفاوتی بین سازگاری گیاهچه‌های حاصل از دو تنظیم کننده رشد مشاهده نشد.

سازگاری

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) بستر کاشت و قارچ میکوریزا در مرحله سازگاری گیاهچه‌های حاصل از ریزازدیادی بر میانگین قطر و طول مخصوص ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر تعداد و نسبت عرض به عمق ریشه در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری داشت. تأثیر معنی‌دار قارچ *G. mosseae* در بستر پیت ماس بر میانگین قطر ریشه گلابی نطنزی مشاهده شده است (شکل ۲-۵). در بستر کوکوپیت شاهد نسبت به سایر تیمارها تعداد ریشه افزایش معنی‌داری داشته است (شکل ۲-۶). برخلاف گزارش ارائه شده توسط Fortunato و همکاران (۲۰۰۵) استفاده از گونه‌های قارچ *Glomus* در گلابی نطنزی تعداد ریشه‌های گیاهچه‌های تلقیح شده گلابی نطنزی را افزایش نداد (شکل ۳-۶). طول مخصوص ریشه به طور معنی‌داری در بستر پیت ماس تیمار شاهد و ترکیب دو گونه قارچ میکوریزا معنی‌دار بوده است. بین تیمار شاهد و ترکیب دو گونه قارچ

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی ریشه گیاهچه‌های گلابی نطنزی تحت تأثیر بسترهای کشت و قارچ‌های میکوریزا
Table 3- ANOVA of root morphological traits of Natanzi pear seedling affected by substrates and mycorrhizal fungi

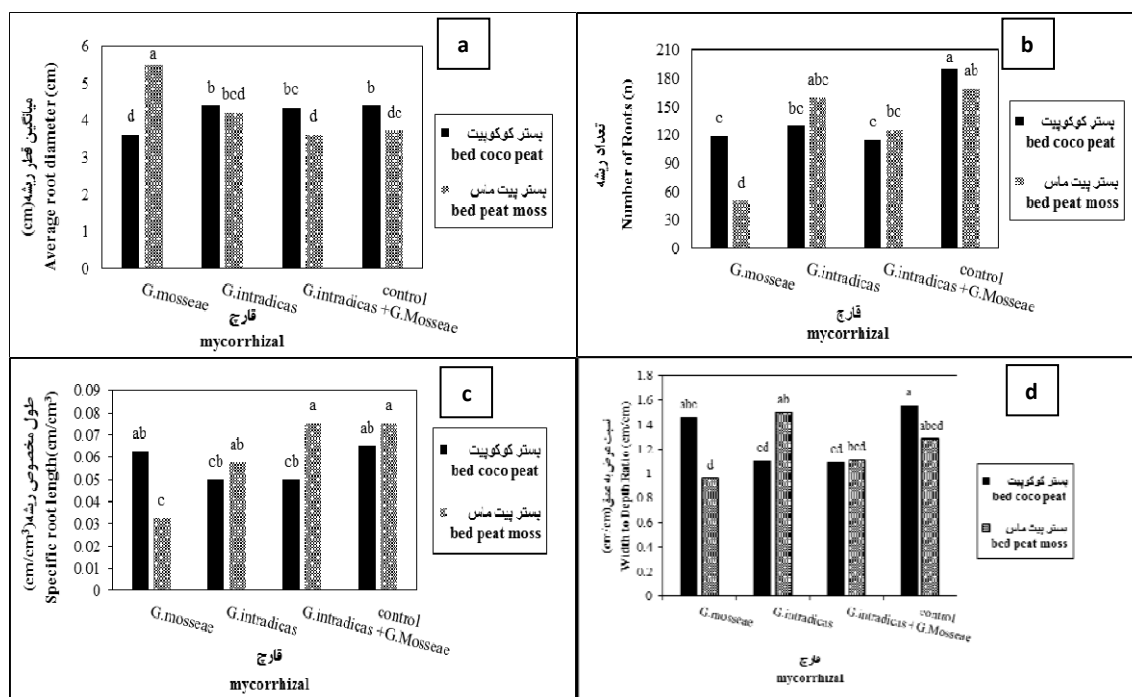
منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares			
		نسبت عرض به عمق Width to depth ratio (cm/cm)	طول مخصوص ریشه Specific root length (cm/cm ³)	تعداد ریشه Number of roots (n)	میانگین قطر ریشه Average root diameter (cm)
بستر کاشت Culture media	1	0.06 ^{ns}	10 ^{-5ns} ×7.8	10 ^{2ns} ×11.68	0.04 ^{ns}
قارچ میکوریزا Mycorrhizae	3	0.15 ^{ns}	10 ^{-4*} ×7.78	10 ^{3**} ×12.83	0.55 ^{ns}
بستر کاشت × قارچ Culture media × Mycorrhizae	3	0.29 [*]	10 ^{-4**} ×10.95	10 ^{2*} ×37.64	2.99 ^{**}
خطای آزمایش Error	24	0.07	10 ⁻⁴ ×2.05	994.4	0.21
ضریب تغییرات Coefficient of variations (%)		21.33	24.51	23.87	10.76

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.
ns, * and **: non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

جدول ۴- تجزیه واریانس غلظت فسفر برگ و درصد کلونیزاسیون ریشه گیاهچه‌های گلابی نطنزی تحت تأثیر بسترهای کشت و قارچ‌های میکوریزا
Table 4- ANOVA of phosphorus leaf content and the root colonization percentage of Natanzi pear seedlings affected by substrates and mycorrhizal fungi

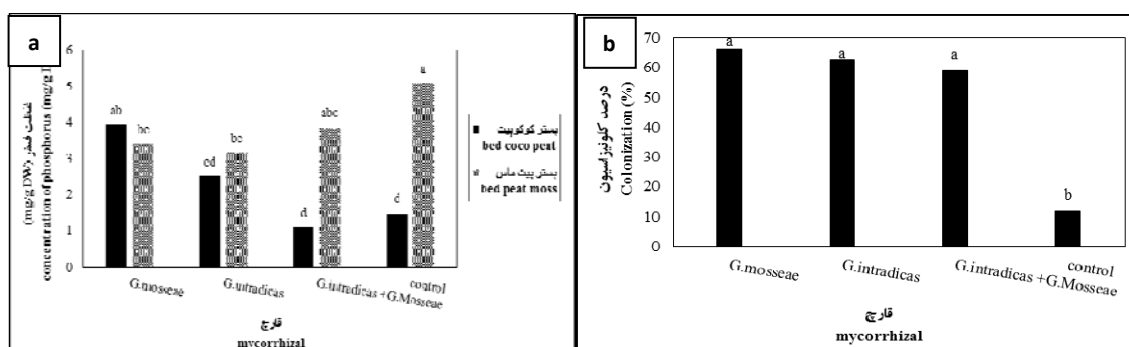
منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		درصد کلونیزاسیون Colonization (%)	غلظت فسفر Concentration of phosphorus (mg/g DW)
بستر کاشت Media	1	110.51 ^{ns}	15.65 ^{**}
قارچ میکوریزا Mycorrhizae	3	3917.12 ^{**}	1.59 ^{ns}
بستر کاشت × قارچ Media × Mycorrhizae	3	275.45 ^{ns}	5.38 ^{**}
خطای آزمایش Error	16	139.01	0.67
ضریب تغییرات Coefficient of variations (%)	1	23.66	26.62

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.
ns and **: non-significant, and significant at 1% probability level, respectively.



شکل ۲- تأثیر قارچ مایکوریزا و بستر بر ویژگی‌های رشدی ریشه، میانگین قطر ریشه (a)، تعداد ریشه (b)، طول مخصوص ریشه (c) و نسبت عرض به عمق (d) گیاهچه‌های گلابی نطنزی با استفاده از آزمون LSD ($\alpha=0.01$)

Figure 2- The effect of mycorrhizal fungi and the substrate on root growth characteristics, Average root diameter (a), Number of roots (b), Specific root length (c) and Width to depth ratio (d), of seedlings Natanzi pear using LSD Test ($\alpha=0.01$)



شکل ۳- تأثیر قارچ مایکوریزا و بستر کشت بر غلظت فسفر (a) و درصد کلونیزاسیون (b) ریشه گیاهچه‌های گلابی نطنزی با استفاده از آزمون LSD ($\alpha=0.01$)

Figure 3- The effect of mycorrhizal fungi and the substrate on the root phosphorus content (a) and the colonization percentage (b) of Natanzi pear seedlings using LSD Test ($\alpha=0.01$)

نتیجه‌گیری

شاخه‌زایی را به همراه داشت و تأثیر منفی بر خصوصیات رویشی گیاهچه‌ها مشاهده نشد. در مرحله ریشه‌زایی در مقایسه بین تیمارهای ریشه‌زایی در هر دو محیط موراشیگ و اسکوگ کامل و ۱/۲ موراشیگ و اسکوگ، بهترین تیمار محیط واجد IBA بود. بهترین غلظت ریشه‌زایی ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA ثبت شد. وجود کالوس تأثیر

جهت ازدیاد درون شیشه‌ای گلابی نطنزی استفاده از BAP (۳) میلی گرم در لیتر) به همراه تیمار IBA (۰/۵ میلی گرم در لیتر) برای شاخه‌زایی مناسب می‌باشد. افزایش غلظت BAP افزایش میزان

کلونیزاسیون مستقل از بستر بود. ۱۰۰ درصد گیاهچه‌ها با محیط سازگار و در حضور قارچ کلونیزاسیون مشاهده شد. غلظت فسفر مستقل از کلونیزاسیون بود و در بستر پیت ماس غلظت فسفر اندام هوایی بیشتر اندازه‌گیری شد.

منفی بر ریشه‌زایی نشان نداد. تلقیح با قارچ مایکوریزا در مرحله سازگاری گیاهچه‌ها با محیط بیرون باعث افزایش رشد طولی گیاهچه‌ها و همچنین افزایش ویژگی‌های رشدی ریشه شد. در بستر پیت ماس با حضور قارچ *G. mosseae* به‌طور معنی‌داری افزایش میانگین قطر ریشه مشاهده شد. سازگاری و بقای گیاهچه‌ها و میزان

منابع

- 1- Al-Maarri K., Arnaud Y., and Miginiac E. 1994. Micro propagation of *Pyrus communis* cultivar 'Passe Crassane' seedlings and cultivar 'Williams': Factors affecting root formation in vitro and ex vitro. *Scientia horticulture*, 58(3): 207-214.
- 2- Aygun A., and Dumanoglu H. 2015. In vitro shoot proliferation and in vitro and ex vitro root formation of *Pyrus elaeagnifolia* Pallas. *Frontiers in plant science*, 6(March) 225.
- 3- Banno K., Yoshida K., Hayashi S., and Tanabe K. 1989. In vitro propagation of Japanese pear cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 58(1): 37-42.
- 4- Bell R.L., Srinivasan C., and Lomberg D. 2009. Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 45(6), 708.
- 5- Berardi G., Infante R., and Neri D. 1993. Micro propagation of *Pyrus calleryana* Dcn. from seedlings. *Scientia horticulture*, 53(1-2): 157-165.
- 6- Branzanti B., Gianinazzi-Pearson V., and Gianinazzi S. 1992. Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. *Agronomie*, 12(10): 841-845.
- 7- Cordier C., Trouvelot A., Gianinazzi S., and Gianinazzi-Pearson V. 1996. Arbuscular mycorrhiza technology applied to micro propagated *Prunus avium* and to protection against *Phytophthora cinnamomi*. *Agronomie*, 16: 679-688.
- 8- Dimitrova N., Nacheva L., and Berova M. 2016. Effect of Meta-topolion on the shoot multiplication of pear rootstock OH×F-333 (*Pyrus communis* L.). *Acta Scientiarum polonorum. Hortorum Cultus*, 15(2): 43-53.
- 9- Duron M., Decourtye L., and Druart P. 1989. Quince (*Cydonia oblonga* Mill.). In *Trees II*. p. 42-58. Springer, Berlin Heidelberg.
- 10- Fadl M.S., and Hartmann H.T. 1967. Isolation, purification, and characterization of an endogenous root-promoting factor obtained from basal sections of pear hardwood cuttings. *Plant Physiology*, 42(4): 541-549.
- 11- Forotan A., and Vadi dar R. 2007. Plant tissue culture, Sepehr, Tehran. (In Persian)
- 12- Fortunato I.M., Ruta C., Castrignano A., and Saccardo F. 2005. The effect of mycorrhizal symbiosis on the development of micropropagated artichokes. *Scientia Horticulture*, 106(4): 472-483.
- 13- Ganji Moghadam I. 2011. Pomology in temperate regions. Agriculture research and education. Tehran. (In Persian)
- 14- Jalili Marandi R. 2010. Growing fruits temperate regions. Jahad Daneshgahi. (In Persian)
- 15- James D.J. 1983. Adventitious root formation 'in vitro' in apple rootstocks (*Malus pumila*) I. Factors affecting the length of the auxin-sensitive phase in M. 9. *Physiologia Plantarum*, 57(1): 149-153.
- 16- Jeffries P., Gianinazzi S., Perotto S., Turnau K., and Barea J.M. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and fertility of soils*, 37(1): 1-16.
- 17- Kapoor R., Sharma D., and Bhatnagar A. K. 2008. Arbuscular mycorrhizae in micro propagation systems and their potential applications. *Scientia Horticulturae*, 116(3): 227-239.
- 18- Karimpour S., Davarynejadur G.H., Bagheri A., and Tehranifar A. 2013. In vitro establishment and clonal propagation of Sebri pear cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(6): 1209-1217.
- 19- Kitson R.E., and Mellon M.G. 1944. Colorimetric determination of phosphorus as molybdivanadophosphoric acid. *Industrial and Engineering Chemistry Analytical Edition*, 16(6): 379-383.
- 20- Lovato P., Guillemin J. P., and Gianinazzi S. 1992. Application of commercial arbuscular endomycorrhizal fungal inoculants to the establishment of micropropagated grapevine rootstock and pineapple plants. *Agronomie*, 12(10): 873-880.
- 21- Mansseri-Lamrioui A., Louerguioui A., Bonaly J., Yakoub-Bougdal S., Allili N., and Gana-Kebbouche S. 2011. Proliferation and rooting of wild cherry: The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. *African Journal of Biotechnology*, 10(43): 8613-8624.
- 22- Moniee A.A. 2001. Pear and Quinces Growing. Iran Technical Publishing Corporation, 105pp. (In Persian)
- 23- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3): 473-497.

- 24- Norman J.R., Atkinson D., and Hooker J.E. 1996. Arbuscular mycorrhizal fungal-induced alteration to root architecture in strawberry and induced resistance to the root pathogen. *Phytophthora fragariae*. Plant and Soil, 185(2): 191-198.
- 25- Ozdemir G., Akpinar C., Sabir A., Bilir H., Tangolar S., and Ortas I. 2010. Effect of inoculation with mycorrhizal fungi on growth and nutrient uptake of grapevine genotypes (*Vitis* spp.). European Journal of Horticultural Science, 103-110.
- 26- Phillips J.M., and Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British mycological Society, 55(1): 158IN18.
- 27- Ponton F., Piche Y., Parent S., and Caron M. 1990. The use of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Boston fern production: I. Effects of peat-based mixes. HortScience, 25(2): 183-189.
- 28- Predieri S., and Govoni M. 1997. *In vitro* propagation of compact pear clones. In VII International Symposium on Pear Growing, 475: 127-134.
- 29- Puthur J.T., Prasad K.V.S.K., Sharmila P., and Saradhi P.P. 1998. Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi improves establishment of micro propagated *Leucaena leucocephala* plantlets. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 53(1): 41.
- 30- Reed B.M., and Bell R.L. 2000. *In vitro* tissue culture of pear: advances in techniques for micro propagation and germplasm preservation. In VIII International Symposium on Pear, 596: 412-418.
- 31- Schubert A., and Lubraco G. 2000. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micro propagated apple rootstocks during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. Applied Soil Ecology, 15(2): 113-118.
- 32- Shah M.A. 2014. Mycorrhizas: novel dimensions in the changing world. Springer, India.
- 33- Shen X.S., and Mullins M.G. 1984. Propagation in vitro of pear, *Pyrus communis* L. cultivars 'William's Bon Chrétien', 'Packham's Triumph' and 'Beurré Bosc'. Scientia horticulture, 23(1): 51-57.
- 34- Shibli R.A., Ajlouni M.M., Jaradat A., Aljanabi S., and Shatnawi M. 1997. Micro propagation in wild pear (*Pyrus syrica*). Scientia Horticulture, 68(1-4): 237-242.
- 35- Smith S.E., and Read D.J. 2010. Mycorrhizal symbiosis. Academic press.
- 36- Viseur J. 1985. Micro propagation of pear, *Pyrus communis* L., in a double-phase culture medium. In Symposium on In Vitro Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants, 212: 117-124.
- 37- Welander M. 1983. *In vitro* rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets. Physiologia Plantarum, 58(3): 231-238.
- 38- Westwood M.N. 1993. Temperate Zone Pomology. Timber Press, Portland, Oregon, USA.
- 39- Yeo D.Y., and Reed B.M. 1995. Micropropagation of three *Pyrus* rootstocks. HortScience, 30(3): 620-623.
- 40- Zakavi M., Askari H., and Irvani N. 2016. Optimizing micropropagation of drought resistant *Pyrus boissieriana* Buhse. Physiology and Molecular Biology of Plants, 22(4): 583-593.



***In vitro* Proliferation, Rooting and Acclimatization of Natanzi Pear Seedlings (*Pyrus communis* cv. Natanzi) with Mycorrhiza Fungi Infection**

A. Hajisadeghian Najafabadi¹, I. Rohollahi^{2*}

Received: 27-06-2018

Accepted: 18-11-2018

Introduction: Natanzi, a native pear cultivar of Iran, is one of the Iranian high quality and commercial pear. True plant type can be produced with *in vitro* micropropagation. Micropropagation used for species that have long generation time, low levels of seed production, or seeds that do not readily germinate. Auxins in various concentrations are used for rooting depending on the different conditions of the tissue and culture medium. After propagation one of the problems with the production of plants through micropropagation is acclimatization. Low survival and poor growth of rooted seedlings in *in vitro* conditions after transferring to the environment, limits the use of tissue culture. The fungi symbiosis with root can enhance the success of this method. Natanzi pear propagation in Murashige and Skoog (MS) and propagated seedling acclimatization with mycorrhiza treatment were not reported. The aim of this study is evaluation the effects of various concentrations of BAP, IBA and GA₃ on shooting, and NAA and IBA on rooting of Natanzi pear. In the second part of this experiment, the effects of mycorrhizal fungi on root development and absorption of phosphorus were evaluated.

Materials and Methods: In this study one-year branch buds of *P. communis* cv. Natanz from a wild mature tree native in village Tame, Natanz city, Isfahan Province, were used as plant material. Natanzi pear cutting were propagated supplemented with MS media under factorial experimental designs with three replications. Shoot proliferation in MS and MS with half concentration by BAP, IBA and GA₃ were studied. Four different levels of IBA and NAA under light and dark condition for rooting were studied. After rooting plants were transplanted into 10 cm×12 cm plastic pots. Transplant was made in conditions of high ambient humidity to reduce damage to the plantlets. At transplant, pots were filled with different sterilized substrates, composed of mixtures of a coco peat:perlite and peat moss:perlite at a 1:1 (v/v) ratio. Substrates were wetted before filling the pots. At transplant, plants were inoculated with the AM fungus *Glomus mosseae* and *G. intraradices*, in the form of a mixture of spores, soil, and infected clover roots. Ten grams of inoculum were placed in each planting hole about 1 cm below the roots, for a total treatment. 10 g of the autoclaved mixed soil used for inoculated control treatment. Acclimatization, seedling survival, colonization, phosphorus concentrations and some morphological characteristics of root such as root characteristic were evaluated under *G. mosseae* and *G. intraradices* infection. Also two different bed, coco peat:perlite and peat moss:perlite at a 1:1 (v/v) ratio were examined. At the end of the experiment, Roots plants were stained to assess mycorrhiza colonization using Phillips and Hayman method (????). Colonization percentages of colonization were measured using Giovannetti and Mosse method. The total P concentration of plants was assessed using standard analytical techniques.

Results and Discussions: BAP (3 mg L⁻¹) with IBA (0.5 mg L⁻¹) is suitable of Natanzi pear proliferation under micropropagation condition. The highest rooting of Natanzi pear under *in vitro* condition were reported in MS and ½MS and 0.5 mg L⁻¹ NAA under light and dark conditions, respectively. The results of experiments on Natanzi pear showed a positive effect of mycorrhiza on the growth of infected seedlings compared to control treatments. Finally 100% of seedling were survived after acclimatization with mycorrhiza. Mycorrhiza increased the seedling length and root growth characteristics. No significant differences were observed in colonization of different mycorrhiza infection. Peat moss with no treatment (control) showed the most phosphorus concentrations and peat moss with *G. mosseae* mycorrhiza showed the most average root diameter.

Conclusions: BAP and IBA (3 × 0.5 mg L⁻¹) showed significant effect on proliferation and NAA (0.5 mg L⁻¹) on rooting in MS respectively. Peat moss with *G. mosseae* is suitable to increase the acclimatization of Natanzi pear seedlings. Mycorrhiza increased the length of seedling and root growth characteristics during eight weeks of acclimatization. Natanzi pear seedlings showed the highest growth under *G. intraradices* treatment in peat moss. *G. mosseae* showed a significant effect on the average root diameter in peat moss. Results of leaf phosphorus concentration and root colonization percentage showed that there was no significant correlation between phosphorus concentration and colonization percentage.

Keywords: Acclimatization, *Glomus*, Pear, Propagation, Rooting

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Student, Horticulture Department, Faculty of Agriculture, Shahed University

(*- Corresponding Author Email: i.rohollahi@shahed.ac.ir)



تأثیر پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم بر ویژگی‌های کیفی و بیوشیمیایی گیلاس رقم سیاه‌مشهد

محمدرضا اصغری^۱ - زهرا آذرشریف^{۲*} - حسین تاجیک^۳ - علیرضا فرخزاد نانساء^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۱۹

چکیده

استفاده از مواد شیمیایی برای کنترل ضایعات و حفظ کیفیت محصولات برداشت شده به دلیل اثرات مضر بر محیط زیست با محدودیت‌های جدی روبرو است. اخیراً پوشش‌های خوراکی پتانسیل خوبی در حفظ کیفیت و ایمنی میوه و سبزی‌های مختلف از خود نشان داده‌اند. تأثیر پوشش صمغ باریجه (در غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی/حجمی)، اسانس زیره سبز (در غلظت‌های صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر) و کلرور کلسیم (در غلظت‌های صفر و یک درصد وزنی/حجمی) بر واکنش‌های فیزیولوژیکی و کیفی میوه گیلاس رقم سیاه‌مشهد (*Prunus avium* cv. Siah Mashhad) مورد بررسی قرار گرفت. میوه‌های پوشش‌دار شده به مدت ۳۰ روز در دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد در انبار (پخچال) نگهداری شدند. ارزیابی کیفی میوه‌ها در ابتدای نگهداری، پس از ۱۵ و ۳۰ روز نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد به‌علاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم نه تنها سرعت افزایش pH و مواد جامد محلول را کاهش دادند، بلکه به‌طور مؤثری اسیدهای آلی کل، محتوی آب و درصد رطوبت میوه، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز، فنول و فلاونوئید کل میوه را در سطح بالا حفظ نمودند. همچنین در پایان مدت نگهداری بافت میوه‌های تیمار شده با یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم محتوی پرولین بالاتر و مالون‌دی‌آلدهید کمتر داشتند. ترکیب صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم با همدیگر به صورت معنی‌داری تأثیر بیشتری نسبت به کاربرد جداگانه تیمارها بر کاهش فرآیندهای پیری، حفظ صفات کیفی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ماندگاری میوه گیلاس داشت.

واژه‌های کلیدی: پوشش دهی، ترکیبات سالم، عمر پس از برداشت، گیاهان دارویی

مقدمه

حفظ کیفیت آن معرفی نمایند. از جمله این مواد می‌توان به پوشش‌های خوراکی دارای افزودنی‌های فعال در کنار اعمال دمای پایین در دوره پس از برداشت اشاره نمود که با استفاده از آنها می‌توان سرعت توسعه بیماری‌ها، فرآیندهای فیزیولوژیکی و اتلاف آب را کاهش داده و وضعیت ظاهری، یکپارچگی و قوام مکانیکی بافت میوه را حفظ نمود (۲۵).

اخیراً پوشش‌های خوراکی و فیلم‌های زیست تخریب‌پذیر بر پایه پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها به علت دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، در فناوری‌های نگهداری محصولات غذایی کاربرد زیادی پیدا کرده‌اند؛ زیرا پلی‌ساکاریدها و صمغ‌ها می‌توانند نوعی غشاء یا پوشش با نفوذپذیری کم نسبت به اکسیژن و دی‌اکسید کربن در اطراف محصول تشکیل دهند که نتیجه آن کاهش سرعت فرآیندهای فیزیولوژیکی محصول و در نتیجه افزایش ماندگاری آن می‌باشد. باید توجه داشت که خواص صمغ‌ها و پوشش‌های خوراکی بر خواص ارگانولپتیک محصول و همچنین بر پذیرش آن توسط مصرف‌کننده

میوه گیلاس بخاطر داشتن آب زیاد، سرعت بالای تنفس و فعالیت‌های متابولیکی بسیار فسادپذیر بوده و ماندگاری پایینی دارد. سرعت بالای تنفس و نرم شدن میوه در دماهای معمولی منجر به تغییر رنگ، افت وزن، قهوه‌ای شدن و کاهش ارزش تغذیه‌ای شده و به این ترتیب ماندگاری آن را محدود می‌نماید (۲۶). امروزه استفاده از سموم و مواد شیمیایی در فناوری‌های محصولات باغی با محدودیت‌های جدی مواجه بوده و محققین در تلاش هستند تا روش‌های سالم و جایگزین را برای افزایش ماندگاری محصول

۱، ۲ و ۴- به ترتیب استاد، دانشجوی دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه

(*)- نویسنده مسئول: (Email: Zahra.azar45@yahoo.com)

۳- استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشگاه ارومیه
DOI: 10.22067/jhorts4.v32i4.74615

تأثیر می‌گذارد. اساساً ویژگی‌های جریان شناختی^۱ صمغ‌ها به ویژه زمانی که در ترکیب با مواد غذایی استفاده می‌شود و سبب ایجاد یا بهبود یافت در محصول می‌گردند از اهمیت بالایی برخوردار است (۲۲). ثابت شده است که برای کاهش ضایعات و پوسیدگی‌های پس از برداشت، جلوگیری از کاهش فنل و فلاوونوئیدها و جلوگیری از افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، استفاده از ۵-۱۰ درصد صمغ عربی و ۰/۱۵ درصد صمغ گوار در ترکیب پوشش میوه‌های گیلاس، گواوا و انبه رهیافت موفقیت آمیزی می‌باشد (۵، ۱۵ و ۲۵). اسانس گیاهان دارویی ماهیت فرار دارند و ممکن است کاربرد آن‌ها به تنهایی کارایی کمی داشته باشد؛ از طرف دیگر از پوشش‌های خوراکی می‌توان به عنوان حامل مواد افزودنی دیگر نظیر ترکیبات ضد میکروبی، ضد اکساینده، طعم‌دهنده و رنگ‌ها استفاده کرد. همچنین کاربرد اسانس در ترکیب پوشش‌های پلی‌ساکاریدی مثل صمغ‌ها منجر به افزایش کارایی اسانس و پوشش خوراکی می‌گردد (۲۲ و ۲۵). اسانس‌ها اغلب به دلیل دارا بودن ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانی نیز کیفیت میوه را حفظ و دوره نگهداری آن را افزایش می‌دهند. استفاده از پوشش زیست‌تخریب پذیر نانوکیتوزان و اسانس زیره سبز با روش کپسوله‌نمودن^۲ (با نسبت کیتوزان به اسانس ۱ به ۰/۲۵ و ۱ به ۰/۷۵، ۱ به ۱ و ۱ به ۱/۲۵) منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز و گلوکاتیون‌ردوکتاز، کاهش فعالیت پراکسیداز و حفظ محتوای اسید آسکوربیک در قارچ‌های بسته‌بندی شده با بیوپلیمر در مقایسه با نمونه‌های شاهد در مدت ۲۰ روز نگهداری گردید (۱۴). گزارش شده است که پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان حاوی یک درصد اسانس آویشن روند اتلاف آب، سرعت کاهش اسیدپتیه کل، مواد جامد و قندهای محلول کل میوه‌های گیلاس را طی مدت ۳۵ روز نگهداری کاهش داده است (۲۶).

باریجه با نام علمی *Ferula gummosa* Boiss گیاهی علفی، چندساله و مونوکاریپیک است که در مناطق کوهستانی شمال و غرب ایران با ارتفاع ۳۰۰۰-۱۸۰۰ متر بالاتر از سطح دریا و بارندگی متوسط سالیانه ۵۰۰-۲۵۰ میلی‌متر می‌روید و ریشه آن غده‌ای و غنی از التوگوم رزین می‌باشد. صمغ به دست آمده از ریشه باریجه به لحاظ صنعتی در کارخانجات چسب‌سازی، تولید پارچه، لوازم آرایشی-بهداشتی، چسب الماس و جواهرسازی کاربرد دارد (۲۴). از نظر دارویی نیز دارای خواص ضد میکروبی، خلط‌آور، محرک، ضدروماتیسم و عفونت می‌باشد که این خواص عمدتاً به ترکیبات زیست‌فعالیتی همچون فنل‌ها، مونوترپن‌ها و کومارین‌های سسکویی‌ترین نسبت داده می‌شود. گزارش‌هایی در مورد خواص اسانس و صمغ باریجه و اثرات

بالینی آن‌ها ارائه شده است (۱۳ و ۲۴) ولی اطلاعات کافی در مورد امکان‌سنجی استفاده از این صمغ به عنوان پوشش خوراکی محصولات باغبانی و چگونگی تأثیر آن بر پارامترهای کیفی میوه برداشت‌شده در دست نمی‌باشد. بر اساس نتایج تحقیق حامدی و همکاران (۹) پوشش صمغ باریجه (با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و اسید آسکوربیک بیشتر) و اسانس کاکوتی (محتوای فنل و فلاوونوئید کل بیشتر) به نحو مطلوبی از رشد باکتری‌های گرم‌مثبت فیله‌های مرغ در مدت ۱۲ روز نگهداری در دمای پایین جلوگیری نموده است.

کلسیم به عنوان یک یون تنظیم‌کننده مهم در سلول‌های گیاهی بوده و علاوه بر ایجاد استحکام در غشاها و دیواره‌های سلولی، نقش کلیدی در رشد گیاه، نمو و واکنش به سیگنال‌های محیطی و تنش‌های مختلف ایفا می‌نماید. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که تیمار کلسیم کیفیت تغذیه‌ای و عمر میوه را در طول مدت نگهداری از طریق حفظ سفتی، کاهش سرعت تنفس و تولید اتیلن، افزایش بیوسنتز ترکیبات معطر، کاهش پوسیدگی و آسیب سرمازدگی افزایش می‌دهد (۸ و ۳۰). با توجه به نقش کلسیم در تحمل به تنش و جلوگیری از نابسامانی‌های فیزیولوژیکی، رسیدگی زودتر از موعد و کاهش سرعت پیری به طور گسترده از ترکیبات کلسیم‌دار به عنوان ترکیبات سالم در افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت میوه‌ها و سبزی‌ها استفاده می‌شود (۱۵). میوه‌های گیلاس پوشش‌یافته با صمغ گوار و عصاره جینسینگ توأم با ۰/۱ درصد کلرور کلسیم میزان مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون کمتر و در مقابل محتوای فنل بالاتری نسبت به شاهد داشتند و کلرور کلسیم تأثیر مثبتی بر حفظ کیفیت کلی میوه‌ها داشت (۵). همچنین غوطه‌وری زغال‌اخته در محلول حاوی غلظت‌های صفر تا ۸۰ میلی‌مولار کلرور کلسیم فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز را در مدت ۳ هفته نگهداری در مقایسه با میوه‌های فاقد تیمار افزایش داده است (۳۰). کلسیم در نفوذپذیری غشاء سلولی و فرآیندهای حیاتی مثل انتقال کربوهیدرات‌ها، متابولیسم نیتروژن و اسیدهای آمینه مانند پرولین نقش دارد (۸). به علاوه با حفظ تورژسانس سلول به جلوگیری از اتلاف آب درون سلولی کمک می‌نماید (۱۸). با توجه به نقش اسانس‌های گیاهان دارویی و کلرور کلسیم در فیزیولوژی پس از برداشت محصول، در این پژوهش تأثیر کاربرد پس از برداشت اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم در ترکیب با پوشش خوراکی صمغ باریجه به‌عنوان ترکیبات طبیعی و سالم بر کیفیت و ماندگاری میوه گیلاس رقم سیاه مشهد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه میوه: میوه‌های گیلاس رقم سیاه مشهد در تاریخ ۱۵ تیر ماه ۱۳۹۵ از باغی واقع در روستای کهرئز در مرحله بلوغ زمانی که ۸۰-۵۰ درصد میوه‌ها رنگ گرفته بودند، برداشت شدند. سپس با

1- Reological characterization
2- Encapsulation

ماهیت‌های مختلف (شامل صمغ، مواد کربوهیدراتی، روغنی، اسانس و اسیدی) می‌باشد را برای میوه‌های کامل و برش‌یافته به کار برد (۲۵ و ۲۷).

اعمال تیمار عوامل سه‌گانه: بدین منظور یک محلول شامل صمغ، کلرید کلسیم و اسانس زیره سبز با غلظت‌های معین برای تیمار میوه‌ها استفاده شد. به طوری که میوه‌ها کاملاً با محلول موردنظر آغشته گردید. سپس آن‌ها را از صافی تمیز عبور دادیم تا محلول اضافی خارج گردد. در نهایت میوه‌ها پس از خشک‌شدن در شرایط دمای اتاق به مدت یک ساعت، در ظروف پلاستیکی شفاف و اتیکت‌دار قرار گرفته و به سردخانه با دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد منتقل شده و به مدت ۱۵ و ۳۰ روز در این شرایط نگهداری شدند. پس از پایان دوره نگهداری، میوه‌ها به مدت یک روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. ارزیابی‌های کیفی در زمان برداشت، ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری در سردخانه به‌علاوه ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسات میانگین داده‌ها برای زمان‌های ۱۵ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد و ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد به‌علاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به صورت جداگانه و با سه فاکتور صمغ، اسانس و کلرور کلسیم انجام گرفت.

اندازه‌گیری pH، اسیدیته قابل تیتراسیون و مواد جامد محلول کل: میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی مدل CG824 اندازه‌گیری شد (۲۷). اندازه‌گیری اسیدهای قابل تیتراسیون به روش تیتر نمودن مخلوط عصاره میوه و آب مقطر در حضور هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال صورت گرفت. مقدار اسیدهای آلی کل بر حسب میلی‌گرم اسید مالیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر عصاره میوه بیان شد (۱۹ و ۲۶). همچنین مواد جامد محلول کل با استفاده از رفرکتومتر دستی مدل ATAGO و برحسب درجه بریکس قرائت شد (۱۹).

مقدار کاهش آب میوه: برای خشک کردن نمونه‌ها آن‌ها را درون کیسه‌های کاغذی قرار داده و سپس در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گذاشته شد. اختلاف وزن تر و وزن خشک میوه‌ها به عنوان محتوی آب درون میوه (بر حسب گرم) یادداشت شد (۳۲). برای محاسبه درصد رطوبت میوه از رابطه (۱) استفاده شد (۲۱).

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{Moisture (\%)} = \left[\frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \right] \times 100$$

در رابطه (۱): W_1 وزن خشک (وزن اولیه) و W_2 وزن تر (وزن ثانویه) نمونه بر حسب گرم می‌باشند.

میزان پرولین: بر اساس روش بیتس و همکاران (۲) عصاره‌گیری در محلول آبی اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد انجام شد. برای سنجش پرولین از معرف ناین‌هیدرین با حل کردن ۱/۲۵ گرم از

احتیاط لازم جهت جلوگیری از هر گونه ضرب‌دیدگی به آزمایشگاه گروه باغبانی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. میوه‌ها از نظر اندازه و یکنواختی تفکیک گردیده و میوه‌های خیلی نرم، آسیب‌دیده و غیریکنواخت حذف شدند. قبل از پوشش‌دهی مقادیر اولیه صفات شامل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، میزان اسید آسکوربیک، میزان فنل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل ارزیابی شدند.

تهیه صمغ باریجه: صمغ گیاه باریجه (کما) از یکی از عطاری‌های نمونه سطح شهر مشهد تهیه و برای استحصال صمغ از گالبانوم به روش جلیلی و همکاران (۱۳) عمل شد. بدین منظور نمونه‌های صمغ پس از انحلال در دی‌اتیل اتر به مدت ۳۰ دقیقه خیسانده شده و به روی شیکر قرار گرفتند. محلول به دست آمده با کاغذ صافی صاف گردید و سپس با دستگاه تبخیر تحت خلأ خشک شد و در ظرف درب‌دار شیشه‌ای که به دور آن فویل آلومینیوم پیچیده شده بود تا زمان استفاده در یخچال و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی و تهیه اسانس زیره سبز: زیره سبز مورد استفاده در این پژوهش توده بومی سبزوار بود که از کشاورزان محلی خریداری شده و اسانس آن به روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت پنج ساعت استحصال گردید (۲۰). آگیری اسانس با سولفات سدیم انجام شد و سپس در شیشه تیره و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به دور از نور تا زمان استفاده نگهداری شد.

تیمار میوه‌ها در پوشش خوراکی تهیه‌شده: برای تهیه غلظت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه مقادیر ۱، ۲ و ۳ گرم صمغ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر انحلال یافته (۳) و سپس درون محلول یک مگنت قرار داده و روی همزن مغناطیسی با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به منظور انحلال کامل قرار گرفت. پس از آن محلول در دمای اتاق، سرد گردید (۲۷). غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر اسانس به وسیله انحلال آن در توئین ۸۰ تهیه شد (۲۶). غلظت یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم نیز با افزودن یک گرم پودر کلرور کلسیم به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. در این تحقیق هر واحد آزمایشی یک ظرف اتیک‌دار شامل ۵۰ میوه گیلان در نظر گرفته شد.

اعمال تیمار عوامل منفرد: به‌علت لحاظ‌شدن غلظت صفر در هر سه عامل، تیمارهایی وجود داشتند که عملاً در آن‌ها یک ماده انحلال می‌یافت. برای پوشش‌دار نمودن میوه‌ها با این تیمارها پس از تهیه محلول‌های صمغ، اسانس و کلرور کلسیم به طور جداگانه میوه‌ها در این محلول‌ها به مدت ۳ دقیقه غوطه‌ور گردید (۱۹).

اعمال تیمار عوامل دوگانه: برای تیمار میوه‌ها با کلرور کلسیم و اسانس/صمغ یا صمغ و اسانس یک محلول پوششی مرکب استفاده شد؛ زیرا می‌توان محلول پوششی واحدی که مرکب از عواملی با

آن در ۳۰ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال و ۲۰ میلی لیتر اسید فسفوریک ۶ مولار استفاده شد. جذب مخلوط شامل یک میلی لیتر عصاره شفاف، یک میلی لیتر آب مقطر، یک میلی لیتر معرف ناین هیدرین و یک میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال را پس از طی مراحل باقی گذاردن در بن ماری به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد، سرد نمودن در یخ، افزودن ۲ میلی لیتر تولوئن و به هم زدن در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شده، و در نهایت مقدار پرولین آزاد بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

اندازه گیری شاخص مالون دی آلدیید: برای این منظور از ۰/۲ گرم بافت میوه در ۳ میلی لیتر محلول ۱۰ درصد تری کلرواستیک اسید عصاره گیری شد. مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر عصاره شفاف به یک میلی لیتر تیوباربتوریک اسید ۰/۲۵ درصد اضافه شده و لوله های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن محلول مقدار جذب در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. میزان مالون دی آلدیید بر اساس تفاوت جذب به دست آمده و ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ بر حسب واحد میلی مول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۶).

تعیین میزان آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز: بر اساس روش دنگ و همکاران (۴) عصاره گیری از ۵ گرم بافت در بافر سدیم بورات با $\text{pH}=8/8$ شامل ۵ میلی مول بر لیتر بتامر کاپتواتانول و یک گرم پلی وینیل پیرولیدون انجام شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم ۲۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی به ۲ میلی لیتر بافر سدیم بورات (با $\text{pH}=8/8$ و غلظت ۵۰ میلی مول بر لیتر) و یک میلی لیتر ال فنیل آلانین افزوده شده و لوله های آزمایش به مدت ۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرو لیتر محلول آبی اسید کلریدریک ۶ مول بر لیتر متوقف گردید. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت شد. واحد فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی ۹۶۳۰ بر حسب نانومول اسید سینامیک تولید شده بر ساعت در هر میلی گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه گیری میزان فنل کل: مطابق با روش هوانگ و همکاران (۱۱) عصاره گیاهی از سائیدن ۳ گرم بافت میوه با ۳۰ میلی لیتر متانول، سانتریفیوژ نمودن در ۱۰۰۰۰ دور و مجدداً رقیق نمودن سوپرناتانت با ۳۰ میلی لیتر متانول به دست آمد. برای اندازه گیری فنل کل، ۰/۵ میلی لیتر عصاره متانولی به لوله های آزمایش محتوی ۵ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ریخته شد. پس از ۸ دقیقه مقدار ۱/۵ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۲۰ درصد اضافه گردید. سپس لوله های آزمایش را تکان داده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق باقی گذارده شد. جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شده و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر ارائه گردید.

محتوای فلاوونوئید کل: بر اساس روش تشریح شده توسط مارینو و همکاران (۲۱) مقدار یک میلی لیتر از عصاره متانولی به لوله های آزمایش محتوی ۴ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد. سپس ۰/۳ میلی لیتر نیتريت سدیم ۵ درصد اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه باقی گذارده شد. در ادامه ۰/۳ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد به درون لوله ها ریخته و پس از ۶ دقیقه مقدار ۲ میلی لیتر هیدروکسید سدیم یک مولار اضافه شد و سپس تا حجم نهایی ۱۰ میلی لیتر به آن ها آب مقطر افزوده گردید. محتویات لوله های آزمایش با تکان دادن، مخلوط شده و جذب آن ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت نتایج بر حسب واحد میکرومول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

آنالیز آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و در مجموع ۹۶ تیمار انجام شد (جدول ۱). برای تجزیه و تحلیل از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ استفاده گردید و از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن برای مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته قابل تیتراسیون: نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات جداگانه هر سه عامل بر pH آب میوه و تأثیر اسانس زیره سبز بر اسیدیته قابل تیتراسیون ۱۵ روز پس از نگهداری معنی دار ($p < 0.01$) بوده است. همچنین اثر متقابل صمغ باریجه و کلرور کلسیم بر pH معنی دار ($p < 0.05$) گردید. میزان pH میوه های گیلان پوشش یافته با یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه توأم با یک درصد کلرور کلسیم، ۱۵ روز پس از نگهداری در کمترین حد بود (شکل ۱). در رابطه با تأثیر پوشش صمغ باریجه بر میزان pH آب میوه ($p < 0.01$) همچنین صمغ باریجه، اسانس زیره سبز ($p < 0.05$) و کلرور کلسیم ($p < 0.01$) بر اسیدیته قابل تیتراسیون تفاوت معنی داری میان میوه های پوشش یافته با غلظت های مختلف ۳۰ روز پس از نگهداری وجود داشت. پروسه های تجزیه ای مربوط به هیدرولیز، اکسیداسیون یا تخمیر غلظت یون های هیدروژن را تغییر می دهند (۲۴). تعداد زیادی از اسیدهای آلی در بافت های گیاهی وجود دارند. مقدار این اسیدها به طور معمول بیش از اندازه مورد نیاز در چرخه کربس و سایر چرخه های متابولیکی است و زیادی آن در واکوئل به شکل آزاد یا نمک های پتاسیم ذخیره می شود. مقدار اسیدهای آلی پس از برداشت به سرعت کاهش می یابد که به علت شرکت اسیدهای آلی در تنفس یا تبدیل آن به قند است (۵). در این پژوهش میوه های تیمار شده با غلظت های ۳-۱ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه در مقایسه با میوه های بدون پوشش در هر دو زمان نگهداری، مقدار pH کمتر و در مقابل اسیدیته قابل تیتراسیون

تنفسی عمل نموده و ورود اکسیژن و خروج دی‌اکسیدکربن را محدود کرده و با تعدیل اتمسفر داخلی میوه‌های پوشش‌دار باعث کاهش تنفس می‌شود که نتیجه آن حفظ اسیدهای آلی و پایین ماندن pH می‌باشد (۱۹ و ۳۷).

بیشتری داشتند. غلظت یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه به طور مؤثری منجر به حفظ pH و اسیدیته میوه در مقایسه با شاهد و سایر غلظت‌های صمغ در هر دو زمان گردید (جدول ۲ و ۳)، هر چند تأثیر پوشش صمغ باریجه بر اسیدیته میوه ۱۵ روز پس از نگهداری معنی‌دار نبود. صمغ موجود در پوشش به مثابه مانعی در برابر گازهای

جدول ۱- تیمارهای پوشش خوراکی
Table 1- Edible coating treatments

عوامل آزمایش Experimental factors			تکرارها Repeats			
صمغ باریجه (A)	اسانس زیره سبز (B)	کلرور کلسیم (C)	تکرار ۱ (Repeat 1)	تکرار ۲ (Repeat 2)	تکرار ۳ (Repeat 3)	تکرار ۴ (Repeat 4)
A1 (0% W/V)	B1 (0μl/l)	C1 (0%w/v)	A1B1C2	A1B1C2	A1B1C2	A1B1C2
	B2 (100μl/l)		A1B2C1	A1B2C1	A1B2C1	A1B2C1
	B3 (200μl/l)		A1B3C1	A1B3C1	A1B3C1	A1B3C1
	B1 (0μl/l)	C2 (1%w/v)	A1B1C2	A1B1C2	A1B1C2	A1B1C2
	B2 (100μl/l)		A1B2C2	A1B2C2	A1B2C2	A1B2C2
	B3 (200μl/l)		A1B3C2	A1B3C2	A1B3C2	A1B3C2
A2 (1% W/V)	B1 (0μl/l)	C1 (0%w/v)	A2B1C2	A2B1C2	A2B1C2	A2B1C2
	B2 (100μl/l)		A2B2C1	A2B2C1	A2B2C1	A2B2C1
	B3 (200μl/l)		A2B3C1	A2B3C1	A2B3C1	A2B3C1
	B1 (0μl/l)	C2 (1%w/v)	A2B1C2	A2B1C2	A2B1C2	A2B1C2
	B2 (100μl/l)		A2B2C2	A2B2C2	A2B2C2	A2B2C2
	B3 (200μl/l)		A2B3C2	A2B3C2	A2B3C2	A2B3C2
A3 (2% W/V)	B1 (0μl/l)	C1 (0%w/v)	A3B1C2	A3B1C2	A3B1C2	A3B1C2
	B2 (100μl/l)		A3B2C1	A3B2C1	A3B2C1	A3B2C1
	B3 (200μl/l)		A3B3C1	A3B3C1	A3B3C1	A3B3C1
	B1 (0μl/l)	C2 (1%w/v)	A3B1C2	A3B1C2	A3B1C2	A3B1C2
	B2 (100μl/l)		A3B2C2	A3B2C2	A3B2C2	A3B2C2
	B3 (200μl/l)		A3B3C2	A3B3C2	A3B3C2	A3B3C2
A4 (3% W/V)	B1 (0μl/l)	C1 (0%w/v)	A4B1C2	A4B1C2	A4B1C2	A4B1C2
	B2 (100μl/l)		A4B2C1	A4B2C1	A4B2C1	A4B2C1
	B3 (200μl/l)		A4B3C1	A4B3C1	A4B3C1	A4B3C1
	B1 (0μl/l)	C2 (1%w/v)	A4B1C2	A4B1C2	A4B1C2	A4B1C2
	B2 (100μl/l)		A4B2C2	A4B2C2	A4B2C2	A4B2C2
	B3 (200μl/l)		A4B3C2	A4B3C2	A4B3C2	A4B3C2

پوشش بود که می‌تواند به‌عنوان یک دلیل عمده برای پایین ماندن pH در تیمار مذکور باشد (جدول ۳). غوطه‌ور نمودن میوه‌های گیلان در محلول یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم مقدار pH را در هر دو زمان در پایین‌ترین حد و مقدار اسیدهای آلی را در بالاترین حد حفظ نمود؛ به طوری که در پایان دوره نگهداری میزان اسیدهای آلی گیلان‌های تیمار شده با کلسیم در مقایسه با میوه‌های فاقد تیمار ۱۳/۵۲ درصد بالاتر بود (جدول ۳). در شرایط تنش اسیدهای آلی از

اسانس‌ها به عنوان یک پوشش خوراکی تبدلات گازی را کاهش می‌دهند و به این ترتیب تنفس کم شده و از تجزیه هیدرات‌های کربن جلوگیری می‌شود. فنل‌های موجود در اسانس به کاهش تنفس و تولید اتیلن کمک کرده و در مجموع سرعت فرآیندهای متابولیکی و مصرف اسیدهای آلی را می‌کاهند (۲۶). روند کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون در میوه‌های گیلان پوشش‌دار شده با ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس در پایان دوره نگهداری به میزان ۱۱/۶۵ درصد کمتر از میوه‌های بدون

گوشت به پوست میوه انتقال پیدا کرده و به عنوان پیش ماده برای ساخته شدن آنزیم های مقابله با تنش به کار برده می شوند. به نظر می رسد حفظ اسیدهای آلی کل در تیمارهای صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم به خاطر نقش فعال این مواد در مقابله با تنش انبارمانی باشد. همچنین با کم شدن تنفس بافت مصرف اسیدهای آلی طی دوره نگهداری کاهش می یابد (۱۰). پوشش خوراکی اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم با کند نمودن فرآیند رسیدن

و فعالیت های متابولیکی تنفس، سبب کاهش مصرف اسیدهای آلی و مانع افزایش pH شده است که نتایج این پژوهش با نتایج نبی فرخانی و همکاران (۲۶) روی میوه های گیلاس پوشش یافته با اسانس آویشن و رد ریگز فریتاس و همکاران (۲۷) در سیب های پوشش دار شده با صمغ زانتان همراه با کلرور کلسیم از لحاظ تأثیر صمغ، اسانس و کلسیم موجود در پوشش بر حفظ pH و اسیدهای آلی میوه مطابقت دارد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات جداگانه پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرید کلسیم بر صفات مختلف گیلاس رقم سیاه مشهد

(*Prunus avium* Cv. Siah Mashhad) در زمان برداشت و ۱۵ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی گراد

Table 2- Mean comparison of main effects (galbanum gum, cumin essential oil and calcium chloride) for different attributes of sweet cherry (*Prunus avium* Cv. Siah Mashhad) at harvest time and 15 days of storage at 2 ± 1 °C

صفات / تیمارها Attributes/ Treatments	pH	اسیدینه قابل تیتراسیون TA (mg/100ml)	مواد جامد محلول کل TSS (Brix)	آب درون میوه Water content (g)	درصد رطوبت Moisture percent (%)	پرولین Proline (mg/g F.W.)	شاخص مالون دی آلدئید MDA (nmol /g F.W.)	آنزیم فنیل آلانین آمونیاز PAL enzyme (nmol/ hour. mg protein)	فنل کل Total phenol (mg GAE/ g F.W.)	فلاونوئید کل Total flavonoid (μmol/g F.W.)
زمان برداشت Harvest time	3.925	1.111	11	5.995	80.644	0.002498	0.0199	76.093	31.255	0.618
صمغ باریجه Galbanum gum: A										
A1 (0% W/V)	4.136a*	0.928a	13.417a	4.158c	74.571b	0.002500a	0.0225a	50.981c	20.569d	0.447c
A2 (1% W/V)	3.952b	1.011a	12.167b	5.399a	78.781a	0.002622a	0.0209a	92.153a	39.449a	0.745a
A3 (2% W/V)	4.031b	0.978a	11.667b	5.261ab	78.493a	0.002586a	0.0213a	88.538a	36.896b	0.761a
A4 (3% W/V)	4.047ab	0.929a	12.417b	4.770b	76.403ab	0.002501a	0.0224a	74.532b	29.201c	0.576b
اسانس زیره سبز Cumin essential oil: B										
B1 (0 μl/l)	4.132a	0.886c	12.688a	4.692a	76.329a	0.002523a	0.0219a	70.575b	30.296b	0.601b
B2 (100 μl/l)	4.028b	0.933b	12.469a	4.883a	77.047a	0.002552a	0.0217a	76.417ab	31.552ab	0.631ab
B3 (200 μl/l)	3.964b	1.097a	12.094a	5.116a	77.811a	0.002582a	0.0217a	82.661a	32.743a	0.664a
کلرید کلسیم Calcium chloride: C										
C1 (0% W/V)	4.089a	0.919b	12.938a	4.567b	75.636b	0.002534a	0.0224a	66.745b	29.293b	0.572b
C2 (1% W/V)	3.993b	1.004a	11.896b	5.228a	78.489a	0.002571a	0.0212a	86.357a	33.766a	0.692a

*در هر ستون میانگین های دارای حروف یکسان برای هر صفت در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند

*Variables in the same column for each variable having different letters are significantly different ($p < 0.05$) based on Duncan's multiple range test.

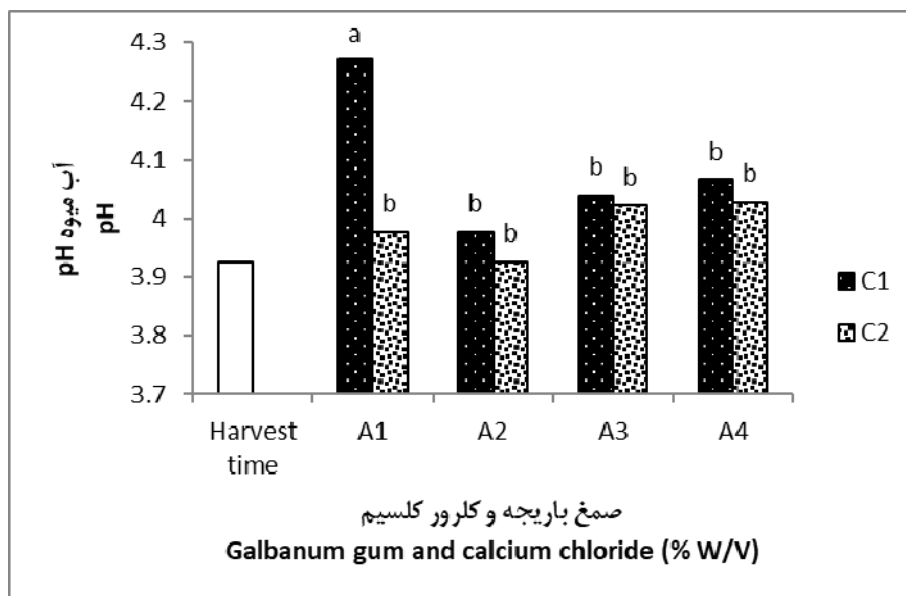
جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات جداگانه پوشش صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرید کلسیم بر صفات مختلف گیلاس رقم سیاه مشهد (*Prunus avium* Cv. Siah Mashhad) ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی‌گراد به‌علاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد

Table 3- Mean comparison of main effects (galbanum gum, cumin essential oil and calcium chloride) for different attributes of sweet cherry (*Prunus avium* Cv. Siah Mashhad) after 30 days of storage at 2 ± 1 °C an additional one day at 20°C

صفات / تیمارها Attributes/ Treatments	pH	اسیدیتته قابل تیتراسیون TA (mg/100ml)	مواد جامد محلول کل TSS (Brix)	آب درون میوه Water content (g)	درصد رطوبت Moisture percent (%)	پروлін Proline (mg/g F.W.)	شاخص مالون دی‌آلدهید MDA (mmol /g F.W.)	آنزیم فنیل آلانین آمونیاژ PAL enzyme (nmol/ hour. mg protein)	فنل کل Total phenol (mg GAE/ g F.W.)	فلاونوئید کل Total flavonoid (μmol/g F.W.)
صمغ باریجه Galbanum gum: A										
A1 (0% W/V)	4.595a*	0.757b	13.917a	4.025b	74.728a	0.002638a	0.0338a	30.700d	10.299c	0.186b
A2 (1% W/V)	4.429b	0.883a	12.917b	4.692b	76.728a	0.002792a	0.0327a	69.672a	25.061a	0.457a
A3 (2% W/V)	4.474b	0.839ab	12.833b	4.563a	76.636a	0.002703a	0.0329ab	58.621b	23.606a	0.498a
A4 (3% W/V)	4.572a	0.774b	13.667ab	4.176b	75.109a	0.002641a	0.0336ab	46.354c	15.237b	0.219b
اسانس زیره سبز Cumin essential oil: B										
B1 (0 μl/l)	4.526a	0.766b	13.594a	4.209a	75.238a	0.002670a	0.0337a	48.003b	15.675c	0.298b
B2 (100 μl/l)	4.536a	0.808ab	13.344a	4.396a	76.023a	0.002685a	0.0332a	51.428ab	18.501b	0.343a
B3 (200 μl/l)	4.493a	0.867a	13.063	4.475a	76.139a	0.002725a	0.0329a	54.579a	21.476a	0.379a
کلرید کلسیم Calcium chloride: C										
C1 (0% W/V)	4.534a	0.755b	13.813a	4.151b	74.877a	0.002639a	0.0344a	46.276b	15.049b	0.299b
C2 (1% W/V)	4.502a	0.873a	12.854b	4.569a	76.724a	0.002748a	0.0320b	56.276a	22.052a	0.380a

*در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان برای هر صفت در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری با هم ندارند

*Variables in the same column for each variable having different letters are significantly different ($p < 0.05$) based on Duncan's multiple range test



شکل ۱- اثر متقابل پوشش صمغ باریجه × کلرور کلسیم بر میزان pH آب میوه ۱۵ روز پس از نگهداری در دمای ۲±۱ درجه سانتی گراد (A1= صفر درصد، A2= ۱ درصد، A3= ۲ درصد و A4= ۳ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه. C1= صفر درصد و C2= ۱ درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم)
Figure 1- Interaction between galbanum gum × calcium chloride on pH of juice during 15 days of storage at 2±1 °C (A1=0%, A2=1%, A3=2% and A4=3% W/V galbanum gum. C1=0% and C2=1% W/V calcium chloride)

پیری را کاهش داده و از افزایش مواد جامد محلول جلوگیری می‌کند (۵ و ۱۹). به طوری که محلول یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم سرعت افزایش مواد جامد محلول را پس از ۱۵ و ۳۰ روز نگهداری به ترتیب به میزان ۸/۰۵ و ۶/۹۴ درصد در مقایسه با شاهد کندتر نمود (جداول ۲ و ۳) که با نتایج دونگ و ونگ (۵) در استفاده از ۰/۱۵ درصد صمغ گوار توأم با ۰/۱ درصد کلرور کلسیم به عنوان پوشش میوه‌های گیلان از نظر کند نمودن سرعت افزایش مواد جامد محلول هم‌سو می‌باشد.

میزان اتلاف آب میوه: بر اساس نتایج، اثرات جداگانه صمغ باریجه و کلرور کلسیم ($p < 0.01$) بر میزان آب درون میوه و درصد رطوبت ۱۵ روز پس از نگهداری معنی‌دار شد. همچنین اثرات جداگانه صمغ باریجه و کلرید کلسیم ($p < 0.01$) بر میزان آب درون میوه، و تأثیر کلسیم ($p < 0.05$) بر درصد رطوبت در پایان مدت نگهداری معنی‌دار بوده است. کاهش مقدار آب در میوه‌های بدون پوشش بیشتر بود و کمترین میزان کاهش آب در پوشش یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری مشاهده شد (جداول ۲ و ۳). محصولات باغبانی آب زیادی دارند بنابراین در معرض اتلاف آب، افت کیفیت ظاهری و افت کیفیت بافت (نرم شدن، شل شدن، خم شدگی، کاهش تردی و میزان آب میوه) هستند (۱). پایین بودن رطوبت میوه‌های بدون پوشش را می‌توان به افت وزن بیشتر و فعالیت متابولیکی بالاتر آن‌ها نسبت داد. در حالی که استفاده از پوشش صمغ باریجه توانست مقدار آب میوه را در مقایسه با میوه‌های بدون پوشش

مواد جامد محلول کل: طبق نتایج آنالیز واریانس تأثیر پوشش صمغ باریجه و کلرور کلسیم ۱۵ روز پس از نگهداری ($p < 0.01$)، همچنین پوشش صمغ باریجه ($p < 0.05$) و کلرور کلسیم ($p < 0.01$) ۳۰ روز پس از نگهداری بر میزان مواد جامد محلول میوه معنی‌دار شد. پوشش صمغ باریجه و به ویژه غلظت ۲ درصد وزنی/حجمی مقدار مواد جامد محلول را در هر دو زمان در مقایسه با میوه‌های فاقد پوشش در سطوح پایین‌تر نگه‌داشتند هر چند که افزایش مواد جامد محلول به تدریج طی مدت نگهداری در کلیه تیمارها اتفاق افتاد (جداول ۲ و ۳). نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان‌دهنده تأثیر پوشش صمغ باریجه در حفظ مواد جامد محلول در مقایسه با میوه‌های فاقد پوشش با نتایج دونگ و ونگ (۵) و محفودی و حمدی (۱۹) در گیلان‌های پوشش‌دار شده با ۱۰ درصد صمغ بادام/ صمغ عربی و ۰/۱۵ درصد صمغ گوار مطابقت دارد. مقادیر بالای مواد جامد محلول در نمونه‌های شاهد ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری (۱۳/۴۱۷ و ۱۳/۹۱۷ درجه بریکس) نشانه پیشرفت فرآیند رسیدگی می‌باشد؛ زیرا افزایش مواد جامد محلول به دلیل شکستن کربوهیدرات‌ها و مواد پکتینی، هیدرولیز پروتئین‌ها و تجزیه قندها به واحدهای سازنده در طی فرآیند تنفس و پیشرفت پیری اتفاق می‌افتد. اما پوشش منجر به کاهش سرعت تنفس و تجزیه قندها به واسطه محدود نمودن مبادلات گازی می‌گردد و در مصرف قندها تأخیر ایجاد می‌شود و روند شکستن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی، چربی‌ها و پروتئین‌ها کند می‌شود (۱۹). کلسیم با کاهش تنفس و تولید اتیلن سرعت وقوع

کلرور کلسیم ($p < 0.05$) در انتهای دوره نگهداری قرار گرفت. نتایج جداول ۲ و ۳ نشان می‌دهد که میوه‌های تیمار شده با محلول یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم مقدار شاخص مالون‌دی‌آلدهید را در ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری در پایین‌ترین حد خود حفظ کردند. در اثر افزایش سن و پیری بافت، تنش‌های محیطی و کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابند که نتیجه آن پراکسیده شدن لیپیدها و تشکیل مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد (۵). در تحقیق حاضر هرچند که افزایش مقدار این شاخص با افزایش مدت نگهداری در کلیه تیمارها اتفاق افتاد، اما افزایش آن در تیمار غوطه‌وری میوه‌ها در یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم در ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری به ترتیب ۵/۳۶ و ۶/۹۸ درصد در مقایسه با شاهد کمتر بود (جدول ۲ و ۳). همچنین در میوه‌های گیلان پوشش‌یافته با ۰/۱۵ درصد صمغ گوار توأم با ۰/۱ درصد کلرور کلسیم در مدت ۸ روز نگهداری روند افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با شاهد و استعمال جداگانه صمغ بسیار کمتر بود (۸). وجود تعادل میان تشکیل رادیکال‌های آزاد و جاروب گردیدن آن‌ها یک مکانیزم کنترل فرآیندهای اکسیداتیو درون سلول است. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به طور مؤثری اکسیژن فعال را می‌زدایند که این امر منجر به برقراری تعادل در میزان رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها در بافت میوه شده و پراکسیده شدن غشاها را کاهش می‌دهد. کلسیم در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش ماندگاری نقش دارد. آنزیم کاتالاز به نحو مؤثری تجزیه پراکسید هیدروژن را کاتالیز نموده و در ایجاد و حفظ بالانس بین تولید پراکسید هیدروژن و حذف آن نقش ایفا می‌کند (۱۷). در تحقیق حاضر میوه‌های تیمار شده با یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم در مقایسه با نمونه‌های بدون تیمار محتوای پرولین بالاتری داشتند (جدول ۳). پرولین در فعال نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب به لیپیدهای غشاء نقش دارد (۳۱).

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز، میزان فنل و فلاوونوئید

کل: بر اساس نتایج، اثرات جداگانه صمغ باریجه و کلرور کلسیم بر فعالیت آنزیم PAL و اثرات جداگانه هر سه عامل بر میزان فنل و فلاوونوئید کل ($p < 0.01$) معنی‌دار شد. همچنین تأثیر اسانس زیره سبز و اثر متقابل صمغ باریجه با کلرور کلسیم بر فعالیت آنزیم PAL و محتوای فنل کل ($p < 0.05$) ۱۵ روز پس از نگهداری معنی‌دار بوده است. در انتهای دوره نگهداری اثرات جداگانه هر سه عامل بر فعالیت آنزیم PAL، فنل و فلاوونوئید کل ($p < 0.01$) معنی‌دار گردید. همچنین اثر متقابل صمغ باریجه و کلرور کلسیم بر مقدار فعالیت آنزیم و فنل کل ($p < 0.05$) و نیز اثر متقابل صمغ باریجه با اسانس

بهتر حفظ نماید (جدول ۲ و ۳). واکس‌ها و دیگر پوشش‌های سطحی با ایجاد مانعی در برابر عبور هوا و بخار آب میزان تعرق و اتلاف آب محصولات را کاهش می‌دهند (۱). به عنوان مثال پوشش کیتوزان-رس درصد رطوبت پوست میوه‌های پرتقال را طی ۹۰ روز نگهداری حفظ نمود و مقدار کاهش رطوبت پوست میوه بدون پوشش ۱/۵۵ برابر نمونه کیتوزان-رس بود (۱۶). همچنین تیمار یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم سبب حفظ رطوبت میوه طی دوره نگهداری شد (جدول ۲ و ۳). گوجه‌فرنگی‌های تیمار شده با سولفات کلسیم ۵ میلی‌مولار در محلول غذایی نیز میزان کلسیم و رطوبت نسبی بالاتری داشتند. کلسیم در استحکام دیواره سلول‌ها، حفظ ساختار و کارکرد غشاء نقش کلیدی داشته و قابلیت نگهداری آب سلول را افزایش می‌دهد (۱۸).

محتوای پرولین: بر اساس نتایج تجزیه واریانس، محتوای

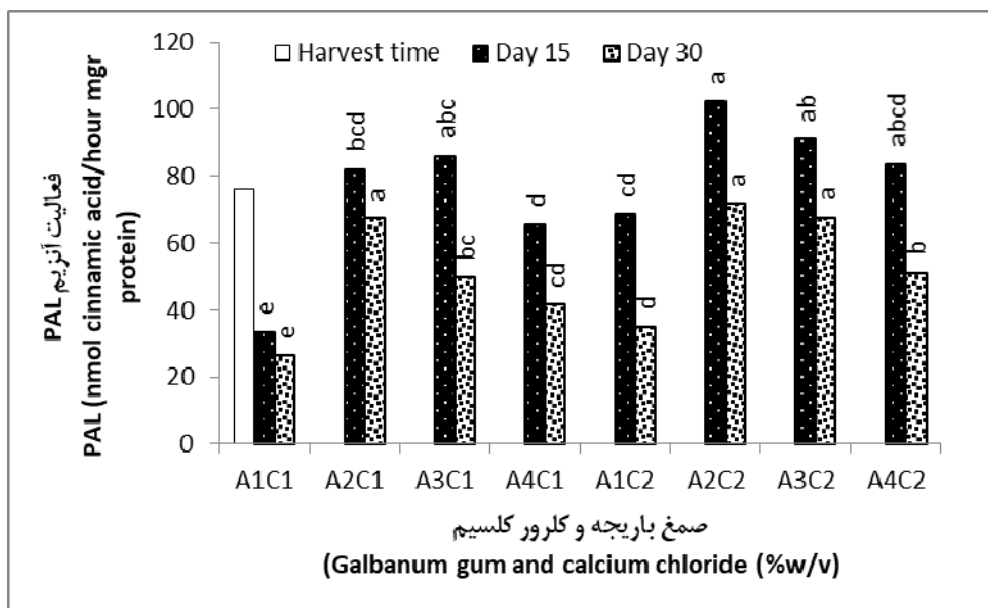
پرولین بافت میوه گیلان تنها تحت تأثیر کلرور کلسیم ($p < 0.05$) در انتهای دوره نگهداری قرار گرفت. در پایان دوره نگهداری تیمار یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم میزان پرولین میوه را ۳/۹۷ درصد در مقایسه با شرایط عدم کاربرد آن، و به مقدار ۹/۰۹ درصد در مقایسه با شروع نگهداری افزایش داد (جدول ۲ و ۳). در نمناع‌های برداشت شده و تیمار شده با یک و ۲ درصد کلرور کلسیم مقدار پرولین نمونه‌های شاهد و تیمار شده با هر دو غلظت کلسیم در روز ششم در مقایسه با روز سوم حدود ۲۵-۴۲ درصد بالاتر بود. گیاهان از استراتژی‌های دفاعی نظیر انباشت پرولین برای کاهش آسیب اکسیداتیو به غشاءها، DNA و پروتئین‌ها استفاده می‌کنند (۳۳). نقش مشخص اسید آمینه پرولین تنظیم فشار اسمزی می‌باشد و از اکسیداسیون درون سلولی در شرایط تنش جلوگیری می‌نماید و به همین دلیل پرولین در گیاهانی که تحت تنش قرار می‌گیرند، مانند نگهداری در سردخانه تجمع می‌یابد (۸ و ۳۳). میزان پرولین آزاد درون سلولی تنها به وسیله میزان سنتز آن‌ها تعیین نمی‌شود بلکه در شرایط تنش کاتابولیسم پلی‌آمین‌هایی نظیر پوترسین به وسیله دی‌آمین اکسیداز منجر به تجمع پرولین می‌شود. این پرولین به عنوان یک منبع نیتروژن آلی در میتوکندری توسط پرولین دهیدروژناز تجزیه می‌شود و در ارتباط مستقیم با سیستم انتقال الکترون و تولید ATP در فرآیند تنفس بوده و بخشی از انرژی مورد نیاز سلول را تأمین می‌کند (۱). به نظر می‌رسد تأثیر کلسیم بر انباشت پرولین به علت اثر آن بر آنزیم‌های مسیر سنتز اسیدهای آمینه نظیر گلوتامیل کیناز یا غیرفعال نمودن آنزیم‌های تجزیه کننده پرولین مثل پرولین اکسیداز باشد (۸).

شاخص مالون‌دی‌آلدهید: بر اساس نتایج جدول تجزیه

واریانس، شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء تنها تحت تأثیر

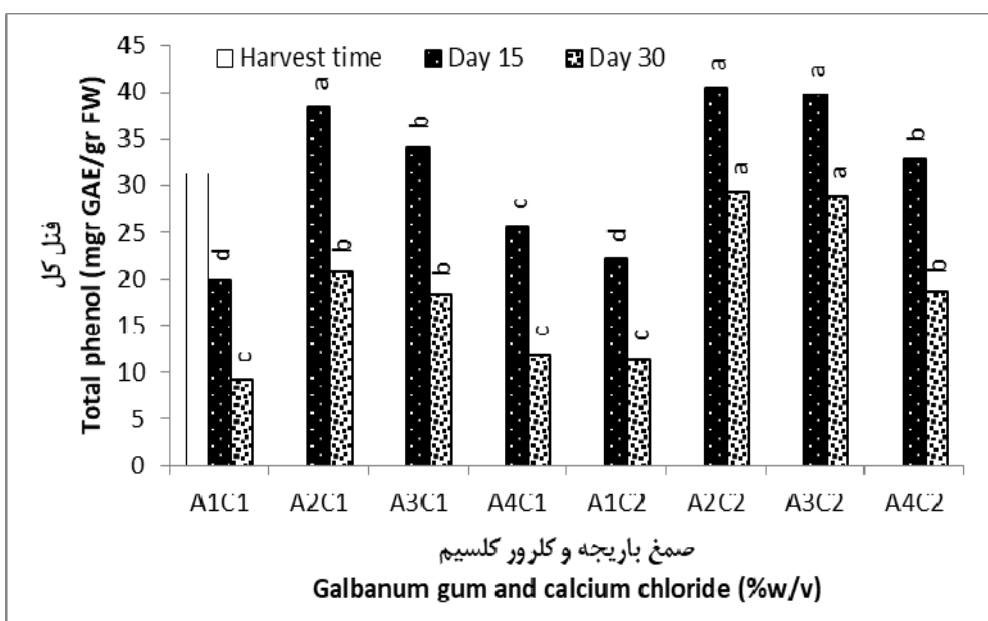
زیره سبز ($p < 0.05$) و صمغ باریجه با کلرور کلسیم ($p < 0.01$) بر ترکیبات فلاوونوئیدی کل معنی دار گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم PAL و فنل کل تحت تأثیر غلظت‌های ۲ و ۳ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس زیره سبز و یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم ۱۵ روز پس از نگهداری افزایش یافت (جدول ۲) و تا پایان دوره انبارداری در نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با عدم تیمار حفظ شد (جدول ۳). بالاترین میزان افزایش فعالیت آنزیم و محتوای فنل کل ۱۵ روز پس از نگهداری مربوط به تیمار ترکیبی ۱ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه توأم با یک درصد کلرور کلسیم بود که این تیمار به طور مؤثری تا انتهای دوره نگهداری از کاهش سریع فعالیت آنزیم و ترکیبات فنلی جلوگیری نمود و تیمار پوششی مذکور از نظر تأثیر بر ترکیبات فنلی کل اختلاف معنی داری با پوشش ترکیبی ۲ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه همراه با یک درصد کلسیم نداشت (شکل‌های ۲ و ۳). همچنین مشاهده می‌شود که در انتهای دوره نگهداری محتوای فلاوونوئید کل نمونه‌ها به طور مؤثری توسط پوشش ترکیبی ۲ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه توأم با ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس یا ۱ درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم حفظ گردید که اختلاف معنی داری با تیمارهای ترکیبی یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه توأم با ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس یا یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم نداشت (شکل‌های ۴ و ۵). پوشش دار نمودن میوه‌های آووکادو با ۱۰ درصد صمغ عربی، یک درصد کیتوزان و ۲ درصد ژل آلوه‌ورا از کاهش بیش از حد فعالیت آنزیم PAL پس از ۷ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جلوگیری نموده است (۳). پوشش صمغ باریجه و اسانس زیره سبز با حفظ pH در سطح پایین (شکل ۱)، با توجه به فعالیت بالای آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در pH قلیایی از افزایش فعالیت آن جلوگیری کرده و باعث حفظ فنل و فلاوونوئید در سطح بالاتری شدند. افزایش محتوای ترکیبات فنلی در تیمارهای صمغ باریجه، اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم ۱۵ روز پس از نگهداری به دلیل فعالیت بالای آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایز است. این آنزیم در شرایط تنش پس از برداشت فعال تر است و روی میزان تولید فنل و فلاوونوئید میوه اثر مثبت دارد (۴). احتمالاً بالا بودن فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های گیل‌اس پوشش دار شده با صمغ باریجه دلالت بر افزایش واکنش‌های دفاعی داشته باشد؛ زیرا نشان داده شده است آنزیم‌های PAL و POD در بافت‌های گیاهی مقاومت را القاء

می‌نمایند (۴ و ۵). در میوه‌های گواوا پوشش دار شده با ۵ درصد صمغ عربی و یک درصد اسانس دارچین/علف لیمو سرعت کاهش ترکیبات فنل و فلاوونوئیدی در مدت ۳۵ روز نگهداری کاهش یافت (۲۵). اسانس گیاهان دارویی نقش مهمی در القاء سنتز ترکیبات فنلی از طریق افزایش فعالیت آنزیم PAL دارند. از طرف دیگر اسانس گیاهان دارویی مستقیماً خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی اسانس‌ها در این خاصیت آنتی‌اکسیدانی نقش داشته و از عمل رادیکال‌های آزاد و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی درون میوه جلوگیری می‌نماید (۲۵). ترکیبات فنلی از طریق به دام‌انداختن رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، جذب اکسیژن منفرد، جذب یون‌های فلزی و موادی که مورد حمله سوپراکسید قرار می‌گیرند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌نمایند (۶ و ۲۱). کلسیم می‌تواند محتوای ترکیبات فنلی تام را افزایش دهد و همچنین حفظ نماید. در میوه‌های زغال اخته تیمار شده با غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌مولار کلرور کلسیم فعالیت آنزیم PAL، محتوای فنل، فلاوونوئید و آنتوسیانین کل در حالتی وابسته به غلظت در مدت ۳ روز نگهداری افزایش یافت (۳۰)، در حالی که گیل و همکاران (۷) گزارش نمودند در میوه‌های گواوا که با ۴-۱ درصد نترات کلسیم تیمار شده بودند روند تغییرات فنل کل به صورت کاهش بود که در انتهای دوره نگهداری محتوای ترکیبات فنلی در تیمارهای کلسیمی بیش از نمونه‌های شاهد بود. عمده بحث تأثیر کلسیم بر فعالیت آنزیم PAL، فنل، فلاوونوئید و آنتوسیانین کل توسط مدل جاکوبوا‌الزکوز و همکاران (۱۲) تشریح می‌گردد. بر اساس این مدل ایجاد تنش زخم در هویج منجر به گسیختگی سلول‌ها و رهایش ATP سیتوزولی به فضای خارج سلولی شده که در ادامه توسط گیرنده‌های غشاء درک می‌شود. با جفت شدن ATP به رسپتور، غلظت کلسیم سیتوزولی افزایش یافته و آنزیم NADPH-اکسیداز فعال شده و تولید O_2^- افزایش می‌یابد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اکسیژن منفرد را به آب تبدیل می‌نماید. این گونه‌های اکسیژن منفرد ($ROS: O_2^-, H_2O$) به عنوان سیگنال‌های ملکولی جهت افزایش سرعت تنفس میتوکندریایی عمل می‌کنند و مقدار ROS افزایش می‌یابد. تجمع ROS‌ها منجر به فعال شدن مسیر فنیل‌پروپانویید و در نهایت افزایش ملکول‌های فنلی می‌شوند که خاصیت آنتی‌اکسیدان دارند.



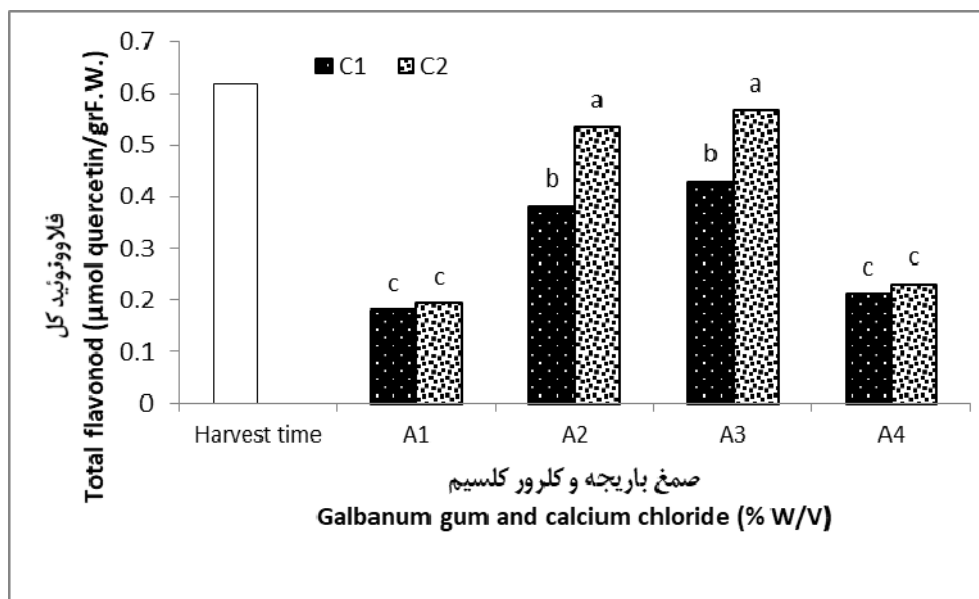
شکل ۲- اثر متقابل پوشش صمغ باریجه × کلرور کلسیم بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز بافت میوه گیلاس ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای ۱±۲ درجه سانتی گراد به علاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد (A1=0 درصد، A2=1 درصد، A3=2 درصد و A4=3 درصد و C1=0 درصد و C2=1 درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم)

Figure 2- Interaction between galbanum gum ×calcium chloride coating on PAL enzyme activity of sweet cherry fruit texture 15 and 30 days of storage at 2±1 °C an additional one day at 20 °C (A1=0%, A2=1%, A3=2% and A4=3% W/V galbanum gum. C1=0% and C2=1% W/V calcium chloride)



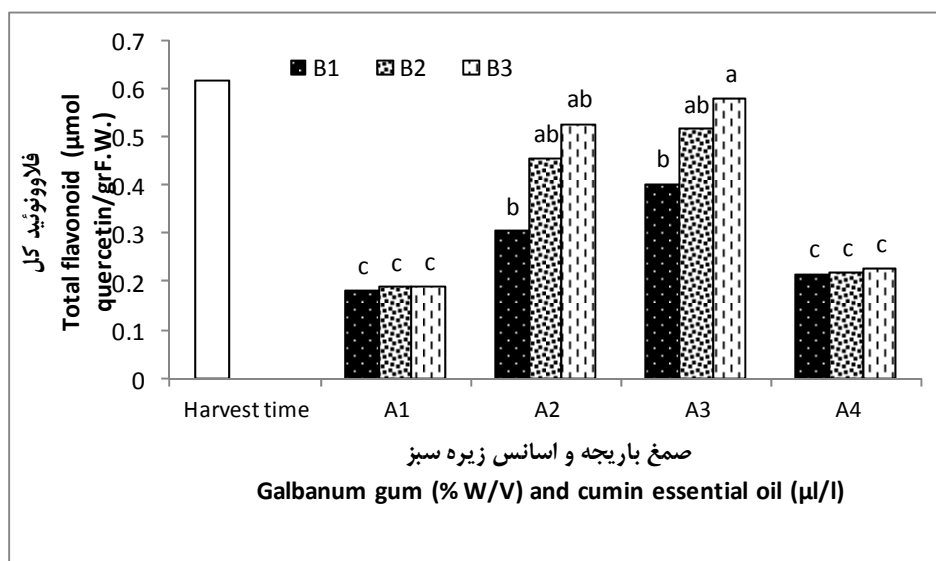
شکل ۳- اثر متقابل پوشش صمغ باریجه × کلرور کلسیم بر میزان فنل کل بافت میوه گیلاس ۱۵ و ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای ۱±۲ درجه سانتی گراد به علاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد (A1=0 درصد، A2=1 درصد، A3=2 درصد و A4=3 درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه. C1=0 درصد و C2=1 درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم)

Figure 3- Interaction between galbanum gum ×calcium chloride coating on total phenol of sweet cherry fruit texture 15 and 30 days of storage at 2±1 °C an additional one day at 20 °C (A1=0%, A2=1%, A3=2% and A4=3% W/V galbanum gum. C1=0% and C2=1% W/V calcium chloride)



شکل ۴- اثر متقابل پوشش صمغ باریجه × کلرور کلسیم بر میزان فلاونوئید کل بافت میوه گیلاس ۱۵ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی گراد (A1= صفر درصد، A2= ۱ درصد، A3= ۲ درصد و A4= ۳ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه. C1= صفر درصد و C2= ۱ درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم)

Figure 4- Interaction between galbanum gum × calcium chloride coating on total phenol of sweet cherry fruit texture 15 days of storage at 2 ± 1 °C (A1=0%, A2=1%, A3=2% and A4=3% W/V galbanum gum. C1=0% and C2=1% W/V calcium chloride)



شکل ۵- اثر متقابل پوشش صمغ باریجه × اسانس زیره سبز بر میزان فلاونوئید کل میوه گیلاس ۳۰ روز پس از نگهداری در دمای 2 ± 1 درجه سانتی گراد بعلاوه یک روز نگهداری در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد (A1= صفر درصد، A2= ۱ درصد، A3= ۲ درصد و A4= ۳ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه. B1= صفر، B2= ۱۰۰ میکرو لیتر بر لیتر و B3= ۲۰۰ میکرو لیتر بر لیتر اسانس زیره سبز)

Figure 5- Interaction between galbanum gum × cumin essential oil coating on total flavonoid of sweet cherry fruit 30 days of storage an additional one day at 20 °C (A1=0%, A2=1%, A3=2% and A4=3% W/V galbanum gum. B1=0μl/l, B2=100μl/l and B3= 200μl/l cumin essential oil)

نتیجه گیری

پوشش صمغ باریجه به همراه اسانس زیره سبز و کلرور کلسیم از طریق کاهش سرعت فرآیندهای آنزیمی و کند نمودن سرعت افزایش pH، مواد جامد محلول، اتلاف آب میوه، حفظ اسیدیته قابل تیتراسیون، افزایش فعالیت آنزیم PAL و محتوای فنل‌ها و فلاونوئید کل منجر به حفظ کیفیت درونی و ماندگاری بهتر میوه گیلاس در مدت ۳۰ روز نگهداری گردید. غوطه‌وری میوه‌ها در محلول یک درصد وزنی/حجمی تأثیر به‌سزایی در کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش پرولین بافت داشت. مطابق با این یافته‌ها، تغییر غلظت مواد به‌کاررفته در ترکیب پوشش می‌تواند تأثیرات بسیار

چشمگیری بر محصول بگذارد، با این حال تحقیقات تکمیل‌کننده‌ای لازم است تا استراتژی‌های این میوه را در برخورد با غلظت‌های جزئی‌تر صمغ و غلظت‌های بالاتر اسانس مشخص کند. پوشش‌های ترکیبی یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه با یک درصد وزنی/حجمی کلرور کلسیم همچنین یک درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه با ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس (به دلیل عدم اختلاف معنی‌دار با ۲ درصد وزنی/حجمی صمغ باریجه توأم با ۲۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس در نتایج و صرفه اقتصادی خرید صمغ) می‌تواند به عنوان یک روش سالم و مطلوب در تیمار پس از برداشت گیلاس مطرح باشد.

منابع

- 1- Asnaashari M., and Zokaei Khosroshahi M.R. 2011. Physiology and Postharvest Technology, 2nd ed. Bu-Ali Sina University Press. Hamedan. 658 Pages. (In Persian)
- 2- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207.
- 3- Bill M., Sivakumar D., Korsten L., and Keith Thompson A. 2014. The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. Crop Protection, 64: 159-167.
- 4- Dang Q.F., Yan J.Q., Li Y., Cheng X.J., Liu S.C., and Chen X.G. 2010. Chitosan acetate as an active coating material and its effect on the storing of *Prunus avium* L. Food Science, 75(2): 125-131.
- 5- Dong F., and Wang X. 2018. Guar gum and ginseng extract coatings maintain the quality of sweet cherry. LWT - Food Science and Technology, 89: 117-122.
- 6- Ghanati F., Bakhtiari S., and Abdolmaleki P. 2010. The Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of the evergreen plant (*Calendula officinalis* L.). Modarres Science and Biotechnology, 1(1): 21-33. (In Persian)
- 7- Gill K.S., Dhaliwal H.S., Mahajan B.V.C., Paliyath G., and Boora R.S. 2016. Enhancing postharvest shelf life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad Safeda by pre-harvest application of hexanal containing aqueous formulation. Postharvest Biology and Technology, 112: 224-232.
- 8- Gobinathan P., Murali P.V., and Panneerselvam R. 2009. Interactive Effects of Calcium Chloride on Salinity-Induced Proline Metabolism in *Pennisetum typoides*. Advances in Biological Research, 3(5-6): 168-173.
- 9- Hamedi H., Kargozari M., Shotorbani P., Babolani Moghadam N., and Fahimdanesh M. 2017. A novel bioactive edible coating based on sodium alginate and galbanum gum incorporated with essential oil of *Ziziphora persica*: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food model, Food Hydrocolloids, 72: 35-46.
- 10- Hosseini M.S., Zahedi S.M., Karimi M., and Ebrahimzadeh A. 2018. Postharvest application of spermidine polyamine on the storage quality and vase Life of mango (*Mangifera indica* L.) in dipped conditions. Horticultural Science, 31(4): 765-777. (In Persian with English abstract)
- 11- Huang H., Zhu Q., Zhang Z., Yang B., Duan X., and Jiang Y. 2013. Effect of oxalic acid on antibrowning of banana (*Musa* spp., AAA group, cv. 'Brazil') fruit during storage. Scientia Horticulture, 160: 208-212.
- 12- Jacobo Velazquez D.A., Martinez Hernandez G.B., Rodriguez S.C., Cao C.M., and Cisneros Zevallos L. 2011. Plants as biofactories: physiological role of reactive oxygen species on the accumulation of phenolic antioxidants in carrot tissue under wounding and hyperoxia stress. Agricultural and Food Chemistry, 59(12): 6583-6593.
- 13- Jalili H.T., Petronilho S., Villanerde J.J., Coimbra M.A., Rosario M., Domongues M., Ebrahimian Z., Silvestre A.J.D. and Rocha S.M. 2013. Assessment of the sesquiterpenic profile of *Ferula gummosa* oleo-gum-resin (galbanum) from Iran, Contributes to it's valuation as a potential source of sesquiterpenic compounds. Industrial Crops and Products, 44: 185-191.
- 14- Karimirad R., Behnamian M., and Dezhsetan S. 2018. Development and characterization of nano biopolymer containing cumin oil as a new approach to enhance antioxidant properties of button mushroom. Biological Macromolecules, 113: 662-668.
- 15- Khaliq G., Tengku Muda Mohamed M., Mohd Ghazali H., Ding P., and Ali A. 2016. Influence of gum arabic coating enriched with calcium chloride on physiological, biochemical and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit stored under low temperature stress. Postharvest Biology and Technology, 111: 362-369.

- 16- Khoshtaghaza M.H., and Taghinezhad E. 2016. Investigation effect of particle Nano coating on storage quality properties of Thomson orange. Food Science and Technology, 61(13): 121-134. (In Persian with English abstract)
- 17- Kou X., Wu M., Li L., Wang S., Xue Z., Liu B., and Fei Y. 2015. Effects of CaCl_2 dipping and pullulan coating on the development of brown spot on 'Huangguan' pears during cold storage. Postharvest Biology and Technology, 99: 63-72.
- 18- Levent Tuna A., Kayab C., Ashraf M., Altunlu H., Yokas I., and Yagmur B. 2007. The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. Environmental and Experimental Botany, 59(2): 173-178.
- 19- Mahfoudhi N., and Hamdi S. 2015. Use of almond and gum arabic as novel edible coating to delay postharvest ripening and to maintain sweet cherry (*Prunus avium*) quality during storage. Food Processing and Preservation, 39(6): 1499-1508.
- 20- Mahmoodi R., Ehsani A., and Zare P. 2012. Characteristics of chemical, antibacterial and antioxidant component of cumin essential oil. Food research, 22(3): 311-321. (In Persian)
- 21- Marinova D., Ribarova F., and Atanassova M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. University of Chemical Technology and Metallurgy, 40(3): 255-260.
- 22- Mohammadzadeh Milani J., Kheiri Sh., Bagheri R., and Maleki G. 2017. Evaluation of emulsifying properties of charkhak (*Launaea acanthodes*) gum. Food Science and Technology, 62(14): 181-189. (In Persian with English abstract)
- 23- Moosavi A., and Hojjati M. 2011. Investigation on the quality characteristics, energy content and mineral elements of four commercial date varieties of Khuzestan province. Food Science and Technology, 8(1): 31-38. (In Persian with English abstract)
- 24- Mortazaienezhad F., and Sadeghian M.M. 2006. Comparison of bioactive compounds of medicinal herb *Ferula gummosa* Boiss. In three areas of Kashan. Research in Agricultural Sciences, 3(2): 172-177. (In Persian)
- 25- Murmu S.B., and Mishra H.N. 2018. The effect of edible coating based on arabic gum, sodium caseinate and essential oil of cinnamon and lemon grass on guava. Food Chemistry, 245: 820-828.
- 26- Nabifarkhani N., Sharifani M., Daraei Garmkhany A., Ganji Moghadam E., and Shakeri A.R. 2015. Effect of nano-composite and Thyme oil (*Thymus vulgaris* L) coating on fruit quality of sweet cherry (Taktaneh Cv) during storage period. Food Science and Nutrition, 3(4): 349-354.
- 27- Rodrigues Freitas I., Cortez Vaga W.R., Pizato S., Prentice Hernandez C., and Borges C.D. 2013. Xanthan gum as a carrier of preservative agents and calcium chloride applied on fresh cut apple. Food Safety, 33(3): 229-238.
- 28- Saftner R.A., Conway W.S., and Sams C.E. 1998. Effects of postharvest calcium and fruit coating treatments on postharvest life, quality maintenance and fruit surface injury in Golden Delicious apples. American Society for Horticultural Science, 123(2): 294-298.
- 29- Sanchez Gonzalez L., Pastor C, Vargas M., Chiralt A., and Gonzalez Martinez C. 2011. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. Postharvest Biology and Technology, 60(1): 57-63.
- 30- Soleimani Aghdam M., Yousefpour Dokhanieh A., Hassanpour H., and Rezapour Fard J. 2013. Enhancement of antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit by postharvest calcium treatment. Scientia Horticulturae, 161(September 2013): 160-164.
- 31- Szabados L., and Savoure A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Science, 15(2): 89-98.
- 32- Tabatabaei J. 2009. Principles of Plant Mineral Nutrition, 1st ed. Kharazmi printing and offset, Tabriz. 388 pages. (In Persian)
- 33- Yousefizad L., Fathi R., and Ghanbari F. 2015. Effectiveness of CaCl_2 , peppermint oil and salicylic acid treatments on shelf life of fresh mint during cold storage. Food Processing and Preservation, 39(6): 2639-2646.



Effect of Galbanum Gum Coating Combined with Cumin Essential Oil and Calcium Chloride on Qualitative and Biochemical Characteristics of Sweet Cherry

M.R. Asghari¹ - Z. Azarsharif^{2*} - H. Tajik³ - A.R. Farrokhzad Nansa⁴

Received: 29-08-2018

Accepted: 10-11-2018

Introduction: Galbanum, an aromatic oleo-resin gum, is produced from Umbelliferae plant and genus *Ferula* with the common Persian name “Barije”. *Ferula gummosa* Boiss. Plants are endemic flora of the mountain ranges of northern Iran. *Cuminum cyminum* is an edible medicinal plant, which is widely distributed in Iran, Turkey, India, Egypt and Central America countries. Calcium (Ca^{2+}) is a secondary messenger that plays pivotal roles (such as cell wall structure, signaling in fruit ripening and ethylene biosynthesis) in regulating physiological functions in fruits, vegetables and flowers during postharvest life. Sweet cherry is one of the most popular fruits among consumers because of its good taste and abundant nutrients and bioactive components such as phenolic compounds and flavonoids. This fruit is a highly perishable product due to its high respiration rate and rapid softening process at room temperature, which ultimately cause the color changes, weight loss, browning and changes of nutrients and restrict its shelf life. Several studies have demonstrated that the postharvest life of sweet cherries can be extended by different preservation techniques, such as refrigeration, synthetic chemical fungicides, modified atmosphere packaging, osmotic treatments, hypobaric treatments, heat treatments and edible coating. In the last several years, edible coatings have been widely studied for the preservation of fruits and vegetables. Edible coating with semipermeable films might extend the postharvest life of sweet cherry through a reduction of moisture migration, gas exchange, respiration and oxidative reaction rates.

Materials and Methods: Healthy, uniform in size, shape, color fruits were selected from sweet cherries collected from an orchard in Kahriz located in Urmia. Effects of galbanum gum (0, 1, 2 and 3% W/V), cumin essential oil (0, 100 and 200 $\mu\text{l/l}$) and calcium chloride (0 and 1% W/V) coating on the physiological and quality responses of sweet cherry (*Prunus avium* Cv. Siah Mashhad) fruit were investigated. The fruits were coated, and stored at $2\pm 1^\circ\text{C}$ and 90-95% relative humidity for 30 days and then transferred to 20°C for an additional 1 day. The quality of sweet cherries analyzed on the initial day, day 15 of storage at $2\pm 1^\circ\text{C}$ and day 30 of storage at $2\pm 1^\circ\text{C}$ with an additional one day at 20°C . Different qualitative and physicochemical attributes including pH, total soluble solid, titrable acidity, fruit water content and moisture percentage, proline, malondialdehyde, phenyl alanine amonalyase (PAL) enzyme activity and nutraceutical (total phenol and flavonoid) evaluations were performed. Statistical analysis of data was done by SAS (version 9.4) and mean comparisons were performed using Duncan's multiple range test.

Results and Discussion: Significant differences were observed in fruit coated with galbanum gum 1% W/V, cumin essential oil 200 $\mu\text{l/l}$ and calcium chloride 1% W/V as compared to the control. The coating applications including gum, cumin essential oil and calcium chloride resulted in the slower rise of pH and TSS and were effective in maintaining higher titrable acidity, fruit water content, moisture percentage, PAL enzyme activity, total phenol and flavonoid. Coating with 1% W/V galbanum gum combined with 1% W/V calcium chloride resulted in highest increase of PAL enzyme activity and total phenol 15-day after storage, which effectively prevented rapid decline enzyme activity and phenolic compound to the end of storage. The combined coating of galbanum gum 2% W/V with CaCl_2 1% W/V or 200 $\mu\text{l/l}$ cumin essential oil significantly maintained total flavonoid 30-day after storage in $2\pm 1^\circ\text{C}$ an additional 1 day in 20°C ; These treatments are not significantly different with galbanum gum 1% W/V with CaCl_2 1% W/V or 200 $\mu\text{l/l}$ cumin essential oil. Concomitantly proline content (0.002748 mlgr/gr F.W.) was at higher levels and malondialdehyde (0.0320 mmol/gr F.W.) at lower levels in tissues of treated fruit with 1% W/V CaCl_2 compared with those of control fruit at the end of storage.

1, 2 and 4- Professor, Ph.D. Student and Associate Professor of Horticultural Science, Urmia University, Urmia, Iran, Respectively

(* - Corresponding Author Email: Zahra.azar45@yahoo.com)

3- Professor of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Conclusion: Fruit and vegetables are highly perishable, and the causes of postharvest losses can generally be ascribed to physiological deterioration associated with the consumption of the internal water and reserve substances. In addition, increasing public concern towards healthy foods has contributed to the promotion of interest in the development of alternative (Safe) methods for controlling postharvest decay and deterioration. These results suggest that galbanum gum, cumin essential oil and CaCl_2 treatments delayed the development of senescence process 'Siah Mashhad' sweet cherry by reducing the rate of quality parameters deterioration and polyphenol compound and also maintaining the structural integrity of cell membrane. Application of 1% W/V galbanum gum coating combined with 1% W/V CaCl_2 might be enhanced low temperature tolerance by maintaining quality parameters, antioxidant compound and shelf life of sweet cherry fruits.

Keywords: Coating, Medicinal plant, Safe compound, Shelf life

Contents

Effect of Different Levels of Soil Moisture and Superabsorbent Polymer on Some Quantitative Traits of Strawberry cv. Selva	506
D. Akbari Nodehi- M. Zangoei- F. Shirdel Shahmiri	
Effect of Ca and Nano-Ca Spray on Reducing the Effects of Salinity Stress on Tomato at Vegetative Growth Stage in Hydro culture	517
M. Haghighi- B. Naghavi	
Effect of Drought Stress on Physio-morphological Characteristics and Proline Content of Three Varieties of Petunia	529
M. Kamali- M. Shoor- S.H. Neamati- A. Lakzian- H.R. Khazaei	
Quality Improvement and Fruit Ripening Acceleration in Date Palm cv. Kabkab Using Colored Covers and Bunch Positioning	540
A. Rostaami- M. Rahemi- M. Eizadi	
Environmental Microclimatic Evaluation under Two Tree Species of Urban Landscape in Mashhad	552
Z. Karimian- A. Tehranifar- M. Bannayan- M. Azizi- F. Kazemi	
Evaluation of Genetic Variation and Heritability of Some Fruit Traits in Pomegranate Genotypes .	555
B. Moradi Ashour- M. Rabiei- B. Shiran- S. Hooshmand	
Managing Growth and Flowering of Geranium under Limited Growth Environment	579
A. Khandan-Mirkohi- S.R. Waez Mousavi- A. Khalighi- R. Naderi	
Effects of Deficit Irrigation on Some Morphological Characteristics of Grape (<i>Vitis vinifera</i> cv. Asgari) Symbiosis with Arbuscular Mycorrhizal	591
M. Fattahi - A. Mohammadkhani	
Genetic Diversity of Superior Walnut Genotypes Revealed by ISSR Markers in Shahrood, Iran	603
F. Davoodi- M. Rezaei- P. Heidari- H. Hokmabadi	
Regulated Deficit Irrigation Regime Effects on Vegetative, Oil Yield and Oil Content and Water Use Efficiency of Zard Cultivar	614
R. Gholami- I. Arji	
Comparison of Antimicrobial Activity of Essential Oils and Plant Extracts with Recombinant Peptide in Controlling of Some Pathogens of Cultivated White Button Mushrooms	627
F. Shariari- A. Tanhaeian- M. Akhlaghi- N. Nazifi	
The Effect of Mechanical Stress on Some Morpho-Physiological and Biochemical Characteristics of <i>Coleus blumei</i> Benth	639
A. Safaei Far- A. Rezaei Nejad- S. Mousavi-Fard - F. Shahbazi	
In Vitro Achievement of <i>Ferutinin</i> from Root of <i>Ferula ovina</i> with Emphasis in Germplasm Resources Conservation	653
H. Zare Mirakabad- M. Farsi- S. Malekzadeh Shafaroudi- M. Iranshahi- A. Bagheri- N. Moshtaghi	
In vitro Proliferation, Rooting and Acclimatization of Natanzi Pear Seedlings (<i>Pyrus communis</i> cv. Natanzi) with Mycorrhiza Fungi Infection	664
A. Hajisadeghian Najafabadi- I. Rohollahi	
Effect of Galbanum Gum Coating Combined with Cumin Essential Oil and Calcium Chloride on Qualitative and Biochemical Characteristics of Sweet Cherry	679
M.R. Asghari- Z. Azarsharif- H. Tajik- A.R. Farrokhzad Nansa	

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 32 No. 4 2019

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: Tehranifar,A. (Horticultural Sciences) Prof. Ferdowsi University of Mashhad.

Editorial Board:

Tehraniyar,A.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Khanizadeh,SH.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
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.
Fallahi,E.	Horticultural Sciences	Department of Plant Sciences, University of Idaho.
Farsi, M.	Plant Breeding and Genetics	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Kafi, M.	Floriculture and landscaping	Prof .Tehran University.
Lahouti, M.	Plant Physiology	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: Jshorts4@um.ac.ir

Web Site: <http://jm.um.ac.ir>