

عنوان مقالات

- مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، محتوا و اجزای اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و دو توده بومی آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط آب و هوایی مشهد ۵۶۷
سمانه محمدی - مجید عزیزی - جمیل واعظی
- پراوری شاخساره درون‌شیشه‌ای گلابی رقم شکری تحت تاثیر عناصر غذایی محیط کشت در فضای نرم افزار Design Expert ۵۷۷
ساجده کریم‌پور - غلامحسین داوری‌نژاد - محمد زکی عقل - محمدرضا صفرنژاد
- تاثیر تنش ناکشانه‌ای دمای پایین ریشه و شاخساره بر بازیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* var. Infinity) در حضور بور ۵۹۳
فهیمة درآباد - مریم حقیقی
- ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی میوه، متابولیت‌های ثانویه و شاخص قهوه‌ای شدن ژنوتیپ سبب توسرخ بکران و برخی ارقام سیب بهار ۶۰۹
بهرام عابدی - طاهره پروانه - الهام اردکانی
- بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین طی رکود جوانه گل در چند رقم گیلاس و آلبالو ۶۱۳
اکبر انگوتی - جعفر حاجی‌لو - فرهنگ رضوی
- تعیین زمان برداشت مناسب و قابلیت انبارمانی تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش "ب" (*Cydonia oblonga* Mill.) در شرایط سردخانه ۶۳۹
مریم تاتاری - مهرداد محلوچی - ابراهیم قربانی
- ارزیابی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*) ۶۵۵
حسن مومینوند - عبدالحسین رضایی نژاد - شیرین تقی پور - کبری سپهوند - بهنام مرادی
- نقش فرمولاسیون‌های مختلف کودی بر گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در مرحله سازگاری ۶۶۹
احمد شریفی - سیده مهدیه خرازی - صبا نجاتی زاده - آزاده خادم - مریم مرادیان
- بررسی تاثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه‌های رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) ۶۸۵
علی رضایی - محمدتقی عیادی - حسن پیرانی
- مطالعه اثر رویشگاه بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.) ۶۹۸
محسن عیسی پور - خدایار همتی - نسترن همتی
- تاثیر کاربرد اسیدوفیلوک و نانوکلات آهن بر گلدهی و عمر پس از برداشت گل ژربرا (*Gerbera jamesonii*) ۷۱۱
سهیلا حاجی زاده - زهره جبارزاده - میر حسن رسولی صدقیانی
- شبیه‌سازی پاسخ جوانه‌زنی هندوانه (*Citrullus lanatus* Thunb) به دما و پتانسیل آب ۷۲۷
سید فرهاد صابر علی - حسین نستری نصرآبادی - زهرا شیرمحمدی علی اکبرخانی

ادامه فهرست داخل جلد

Contents

- A Comparison of Morphological Characteristics, Composition and Essential Oils Content of *Thymus vulgaris* and Two Landraces of *Thymus transcaspicus* in Mashhad Region Climate 576
S. Mohammadi - M. Azizi- J. Vaezi
- In Vitro* Shoot Proliferation of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' in Different Medium Nutrition by Design Expert Software 591
S. Karimpour - Gh.H. Davarynejad- M. Zaki-AGhl- M.R. Safarnejad
- The Impact of Sudden Low Temperature Stress of Root and Shoot on the Recovery of Some of Vegetative and Physiological Traits of Tomato in the Presence of Boron 608
F. Dezhabad - M. Haghighi
- Investigation of Correlation of Enzymatic Browning fruit tissue and Amount of Phenolic Compounds, Flavonoid, and Anthocyanin Red-flash and Some Iranian Spring Apple Cultivars 622
B. Abedi - T. Parvaneh- E. Ardakani
- Investigating of Antioxidant Enzymes and Proline Changes During the Flowering Bud Dormancy in Several Cherry Cultivars 637
A. Angouti - J. Haji-lou- F. Razavi
- Determination of the Appropriate Harvest Time and Storability of some Cultivars and Promising Genotypes of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in Cold Storage Conditions 653
M. Tatari - M. Mahlouji- E. Ghorbani
- Effect of Different Drying Methods on Drying Time and some Phytochemical Characteristic of *Pelargonium (Pelargonium graveolens)* 668
H. Mumivand -H. Rezaei Nejad - Sh. Taghipour - K. Sepahvand - B. Moradi
- The Role of Various Fertilizer Formulations on *in vitro* Derived *Gerbera* Plantlets (*Gerbera jamesonii*) during Acclimatization Phase 683
A. Shariifi - M. Kharrazi- S. Nejatizadeh- A. Khadem- M. Moradian
- Effect of Different levels of Seaweed Fertilizer on Growth Parameters, Yield and Essential Oil Content of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.) 696
A. Rezaei - M.T. Ebadi- H. Pirani
- Study of the Effect of Habitat on Morphological and Phytochemical Traits of Horsemint (*Mentha longifolia* L.) 710
M. Eisapoor - Kh. Hemmati- N. Hemmati
- Effect of Fulvic Acid and Iron Nano Chelate Application on Flowering and Vase Life of *Gerbera jamesonii* cv. Dunc 725
S. Hajizadeh - Z. Jabbarzadeh- M.H. Rasouli-Sadaghiani
- Simulation of Germination Response of Watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb-) to Temperature and Water Potential 741
S.F. Saberli - H. Nastari Nasrabadi - Z. Shirmohamadi Ali AkbarKhani

Continue Content in cover

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 1398

شماره 4

جلد 33

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال 1398، کلیه نشریات دارای درجه "علمی-پژوهشی" به نشریه "علمی" تغییر نام یافتند.

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

استاد - تغذیه نشخوارکنندگان (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - فیزیولوژی بذر (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
دانشیار - علوم باغبانی (دانشگاه صنعتی اصفهان)
پژوهشگر - موسسه کشاورزی و غذا اوتاوا کانادا
استاد - علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه شیراز)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
دانشیار - علوم باغبانی (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)
استاد - گیاهان دارویی (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - علوم باغبانی (دانشگاه تهران)
استاد - گروه علوم باغبانی دانشگاه آیداهو آمریکا
استاد - ژنتیک و اصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)
استاد - گلکاری و مهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)
استاد - فیزیولوژی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)
چاپ: چاپخانه دانشگاه فردوسی مشهد

آرویی، حسین
توکل افشاری، رضا
تهرانی فر، علی
شور، محمود
حقیقی، مریم
خانی زاده، شاهرخ
داوری نژاد، غلامحسین
راحمی، مجید
زمانی، ذبیح اله
شریفانی، محمد مهدی
عزیزی، مجید
عبادی، علی
فلاحی، اسماعیل
فارسی، محمد
کافی، محسن
لاهوئی، مهرداد
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.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- 567 مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، محتوا و اجزای اسانس آویشن باغی
(*Thymus vulgaris*) و دو توده بومی آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط آب و هوایی مشهد
سمانه محمدی - مجید عزیزی - جمیل واعظی
- 577 پرآوری شاخساره درون شیشه‌ای گلایی رقم شکری تحت تاثیر عناصر غذایی محیط کشت در فضای نرم افزار Design Expert
ساجده کریم‌پور - غلامحسین داوری‌نژاد - محمد زکی عقل - محمدرضا صفرنژاد
- 593 تاثیر تنش ناکهانی دمای پایین ریشه و شاخساره بر بازیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon*
esculentum var. *Infinity*) در حضور بور
فهیمه دژآباد - مریم حقیقی
- 609 ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی میوه، متابولیت‌های ثانویه و شاخص قهوه‌ای شدن ژنوتیپ سیب توسرخ بکران و برخی ارقام سیب بهاره
بهرام عابدی - طاهره پروانه - الهام اردکانی
- 623 بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین طی رکود جوانه گل در چند رقم گیلاس و آلبالو
اکبر انگوتی - جعفر حاجی‌لو - فرهنگ رضوی
- 639 تعیین زمان برداشت مناسب و قابلیت انبارمانی تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش "به" (*Cydonia oblonga* Mill.) در شرایط
سردخانه
مریم تاتاری - مهرداد محلوچی - ابراهیم قربانی
- 655 ارزیابی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری (*Pelargonium*
graveolens)
حسن موموند - عبدالحسین رضایی نژاد - شیرین تقی‌پور - کبری سپهوند - بهنام مرادی
- 669 نقش فرمولاسیون‌های مختلف کودی بر گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در مرحله سازگاری
احمد شریفی - سیده مهدیه خرازی - صبا نجاتی زاده - آزاده خادم - مریم مرادیان
- 685 بررسی تاثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه‌های رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja*
hortensis L.)
علی رضایی - محمدتقی عبادی - حسن پیرانی
- 698 مطالعه اثر رویشگاه بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.)
محسن عیسی‌پور - خدایار همتی - نسترن همتی
- 711 تاثیر کاربرد اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر گلدهی و عمر پس از برداشت گل ژربرا (*Gerbera jamesonii*) رقم دانی
سهیلا حاجی زاده - زهره جبارزاده - میر حسن رسولی صدقیانی
- 727 شبیه‌سازی پاسخ جوانه‌زنی هندوانه (*Citrullus lanatus* Thunb.) به دما و پتانسیل آب
سید فرهاد صابرعلی - حسین نستری نصرآبادی - زهرا شیرمحمدی علی اکبرخانی
- 743 تعیین مهمترین عوامل موثر بر عملکرد باغات زیتون شمال ایران
علی آجیلی لاهیجی - علی محمدی ترکاشوند - عبدالمحمد محنت کش - میرناصر نویدی

- 757 بررسی اثر برخی مالچ‌های آلی بر افزایش مقاومت به سرما در گیاه تاج الملوک (*Aquilegia sp.*)
یحیی سلاح ورزی - مریم کمالی - جعفر نباتی - حمید احمدپور میر
- 769 اثر اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنیل آلانین آمونیا لایز و ترکیبات فنلی در استویا
سیده فاطمه رسولی - منوچهر قلی‌پور - کامبیز جهان‌بین - حمیدرضا اصغری
- 781 بررسی امکان القاء پلی‌پلویدی در سوخ‌های سنبلک *Muscari* با استفاده از ته شکافی و تیمار کلشی‌سین
عبدالرضا رمضان قنبری - ایمان روح‌اللهی

Contents

A Comparison of Morphological Characteristics, Composition and Essential Oils Content of <i>Thymus vulgaris</i> and Two Landraces of <i>Thymus transcaspicus</i> in Mashhad Region Climate	576
S. Mohammadi - M. Azizi- J. Vaezi	
<i>In Vitro</i> Shoot Proliferation of <i>Pyrus communis</i> cv. 'Shekari' in Different Medium Nutrition by Design Expert Software	591
S. Karimpour - Gh.H. Davarynejad- M. Zaki-AGhl- M.R. Safarnejad	
The Impact of Sudden Low Temperature Stress of Root and Shoot on the Recovery of some of Vegetative and Physiological Traits of Tomato in the Presence of Boron	608
F. Dezhabad - M. Haghighi	
Investigation of Correlation of Enzymatic Browning fruit tissue and Amount of Phenolic Compounds, Flavonoid, and Anthocyanin Red-flash and Some Iranian Spring Apple Cultivars	622
B. Abedi - T. Parvaneh- E. Ardakani	
Investigating of Antioxidant Enzymes and Proline Changes During the Flowering Bud Dormancy in Several Cherry Cultivars	637
A. Angouti - J. Haji-lou- F. Razavi	
Determination of the Appropriate Harvest Time and Storability of some Cultivars and Promising Genotypes of Quince (<i>Cydonia oblonga</i> Mill.) in Cold Storage Conditions	653
M. Tatari - M. Mahlouji- E. Ghorbani	
Effect of Different Drying Methods on Drying Time and some Phytochemical Characteristic of Pelargonium (<i>Pelargonium graveolens</i>)	668
H. Mumivand - H. Rezaei Nejad- Sh. Taghipour- K. Sepahvand- B. Moradi	
The Role of Various Fertilizer Formulations on <i>in vitro</i> Derived Gerbera Plantlets (<i>Gerbera jamesonii</i>) during Acclimatization Phase	683
A. Sharifi - M. Kharrazi- S. Nejatizadeh- A. Khadem- M. Moradian	
Effect of Different levels of Seaweed Fertilizer on Growth Parameters, Yield and Essential Oil Content of Summer Savory (<i>Satureja hortensis</i> L.)	696
A. Rezaei - M.T. Ebadi- H. Pirani	
Study of the Effect of Habitat on Morphological and Phytochemical Traits of Horsemint (<i>Mentha longifolia</i> L.)	710
M. Eisapoor - Kh. Hemmati- N. Hemmati	
Effect of Fulvic Acid and Iron Nano Chelate Application on Flowering and Vase Life of <i>Gerbera jamesonii</i> cv. Dune	725
S. Hajizadeh - Z. Jabbarzadeh- M.H. Rasouli-Sadaghiani	
Simulation of Germination Response of Watermelon (<i>Citrullus lanatus</i> Thunb.) to Temperature and Water Potential	741
S.F. Saberali - H. Nastari Nasrabadi - Z. Shirmohamadi Ali AkbarKhani	
Determination of the Most Important Factors Affecting Yield of Olive (<i>Olea europaea</i> L.) Orchards in the North of Iran	755
A.Ajili Lahiji - A. Mohammadi Torkashvand - A. Mehnatkesh and Mirnaser Navidi	
Effect of some Organic Mulches on Cold Resistance of <i>Aquilegia</i> sp.	768
Y. Selahvarzi - M. Kamali- J. Nabati- H. Ahmadpourmir	
Effect of Jasmonic and Salicylic Acid on Antioxidant Enzymes, PAL and Phenolic Compounds in <i>Stevia rebaudiana bertonii</i>	780
F. Rasouli -M. Gholipoor -K. Jahanbin- H.R. Asghari	
Possibility of Polyploidy Induction in <i>Muscari armeniacum</i> Bulbs by Scoring and Colchicine Treatments	792
A. Ramezan Ghanbari - I. Rohollahi	



مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی، محتوا و اجزای اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) و دو توده بومی آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط آب و هوایی مشهد

سمانه محمدی^۱ - مجید عزیزی ارانی^{۲*} - جمیل واعظی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۶

چکیده

آویشن یکی از مهمترین گیاهان دارویی ایران و جهان است که به دلیل داشتن دو ترکیب تیمول و کارواکرول دارای خواص دارویی متنوعی می-باشد. هدف از انجام این آزمایش بررسی خصوصیات میکروسکوپی و مورفولوژیکی آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) در مقایسه با دو توده آویشن خراسانی (*Thymus transcaspicus*) در شرایط کشت شده آب و هوایی مشهد می-باشد. بدین منظور آزمایشی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار و در هر تکرار ۹ بوته انجام شد. تیمارها شامل آویشن باغی و دو توده آویشن خراسانی (A و B) بود. نتایج نشان داد که تنوع در خور توجهی از نظر صفات مهم اصلاحی گیاهان دارویی بین تیمارها وجود دارد. با توجه به نتایج بدست آمده از لحاظ خصوصیات مورفولوژیکی بزرگترین طول و عرض برگ، تعداد گل و طول گل، فاصله میانگره و طول گل آذین در توده A آویشن خراسانی مشاهده شد و بیشترین عملکرد تر و خشک، ارتفاع گیاه، بزرگترین قطر تاج پوشش و درصد اسانس مربوط به بوته‌های آویشن باغی بود. نتایج آنالیز GC-MS نشان داد که اسانس آویشن باغی دارای ۳۱ ترکیب و اسانس آویشن‌های خراسانی دارای ۲۷ ترکیب بودند. با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی در آویشن‌های مورد مطالعه دو نوع کرک غده‌ای و پوششی تشخیص داده شد که کرک غده‌ای از نوع سپری بدون پایه بود. در آویشن باغی میانگین اندازه کرک‌های سپری و کرک-های پوششی به ترتیب ۷۳/۱۱ و ۵۷/۳۳ میکرومتر بود که در مقایسه با آویشن‌های خراسانی، تراکم کرک‌های پوششی و سپری بیشتر بود. در مجموع نتایج بدست آمده حکایت از وجود پتانسیل ژنتیکی مناسبی از لحاظ کلیه صفات در آویشن‌های خراسانی و باغی داشت که می‌توان با انتقال صفات از آویشن باغی در برنامه‌های اصلاحی به عنوان پایه به آویشن خراسانی حداکثر استفاده را به عمل آورد و می‌توان از این گونه بومی ایران به عنوان جایگزین مناسبی برای گونه اروپایی آویشن باغی جهت مقاصد مختلف، بالاخص کاربردهای دارویی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آویشن باغی، آویشن خراسانی، کرک سپری، میکروسکوپ الکترونی روبشی

مقدمه

ارزشمندترین گیاهان دارویی دنیاست. آویشن خراسانی (*T. transcaspicus*) یکی از گونه‌های اسانس‌دار می‌باشد که در استان خراسان به صورت خودرو در مناطق شمالی و مرکزی استان (مخصوصاً ارتفاعات هزار مسجد و بینالود) پراکنش دارد. گیاهی بالشتکی تنک، با ساقه‌های بسیار منشعب، با قاعده چوبی، شاخه گل دهنده به ارتفاع ۱۰ تا ۵۰ سانتی‌متر، کم و بیش راست، در تمام سطح پوشیده از کرک‌های گسترده می‌باشد. آویشن باغی (*T. vulgaris* L.) از قرن شانزدهم رسماً به عنوان یک گیاه دارویی معرفی شد. آویشن باغی یا آلمانی بومی جنوب اروپا و نواحی مختلف مدیترانه از جمله کشورهای فرانسه، پرتغال، اسپانیا، ایتالیا و یونان است. این گیاه در نواحی نیمه خشک زلاندنو به میزان بیش از چندین هزار هکتار به صورت خودرو وجود دارد. این گونه در ایران به طور وحشی دیده نشده

ایران به لحاظ تنوع اقلیمی و تنوع زیستی از وسیع و منحصر به فردی برخوردار است. این تنوع در مورد گیاهان و از جمله گیاهان دارویی به روشنی مشهود است. گیاه آویشن (*Thymus spp.*) با نام عمومی Thyme به دلیل دارا بودن برخی متابولیت‌های دارویی و به ویژه اسانس یکی از پر مصرف‌ترین (به عنوان دارو، ادویه و عطر) و

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.62795

است. در تمام فارماکوپه‌های معتبر از پیکر رویشی آویشن به عنوان دارو یاد شده و خواص درمانی آن مورد تأکید قرار گرفته است. ۱۸ گونه از آویشن‌ها متعلق به کشور ایران است که حدود ۱۳٪ از کل گونه‌های آویشن دنیا بومی ایران هستند (۸). گونه‌های موجود در ایران اکثراً متعلق به زیربخش Kotschyani Klokov می‌باشند (۸). کرک‌های غده‌ای ساختارهای ترش‌خی تخصص یافته‌ای هستند که تولید اسانس در برخی گیاهان به وجود آنها بستگی دارد (۴).

در ایران مشکلات بسیاری برای تولید گیاهان دارویی وجود دارد. برداشت بی‌رویه از عرصه‌های طبیعی منجر به تخریب زیستگاه‌ها، کاهش تنوع و در نهایت انقراض بسیاری از گونه‌های گیاهان دارویی گردیده است. به منظور حفظ و حراست از این گونه‌ها که ذخایر ژنتیکی ارزشمند این سرزمین به حساب می‌آیند و نیز بهره‌برداری علمی و اصولی از این منابع، شناخت عمیق و مبتنی بر اصول علمی چنین گیاهانی در اولویت بررسی قرار دارند. بهینه‌سازی عملیات به زراعی اگرچه نقش مؤثری در بهبود تولید این گروه از محصولات کشاورزی داشته است ولی بدون انجام عملیات به نژادی رسیدن به حداکثر تولید امکان‌پذیر نمی‌باشد. عملیات به نژادی در گیاهان دارویی و معطر در ابتدای فاز توسعه خود است لذا مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی این گروه از گیاهان بستر اولیه مطالعات اصلاحی در راستای بهره‌برداری اصولی از این منابع جهت به نژادی و افزایش کمیت و کیفیت مواد مؤثره گیاهان دارویی به حساب می‌آید (۱۳).

مطالعات یابوری و همکاران نشان داده است که گیاهان رویشگاه‌های مختلف استان‌های آذربایجان شرقی و غربی از نظر میانگین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، طول گل آذین، طول کاسه و جام گل و بازده متوسط اسانس با هم متفاوت هستند. محل رویش و نمو گیاهان دارویی، از لحاظ ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیایی و تأثیری که این عوامل بر دما، نور و رطوبت نسبی می‌گذارند، در متابولیسم گیاهان دارویی و تغییرات سنتز مواد مؤثره آنها اهمیت زیادی دارد (۱۶). آویشن از نظر ترکیبات دارویی و صفات مورفولوژیکی دارای تنوع بسیار بالایی است (۱۵). در همین رابطه در مطالعه‌ای که توسط لویز پوژول و همکاران بر روی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف گونه *T. loscosii* صورت گرفت، تنوع ژنتیکی بسیار بالایی بین این جمعیت‌ها مشاهده شد و این تنوع به پلی‌پلوئید بودن این گونه ارتباط داده شد که سبب افزایش قدرت باروری و سازگاری آن شده است (۹). افلاکیان و همکاران با مطالعه اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنیایی که از سه استان اصفهان، مرکزی و لرستان جمع‌آوری شده بود بیان کردند که اکوتیپ خرم آباد ۱ از نظر عملکرد بوته به سایر اکوتیپ‌ها برتری دارد و مهمترین عوامل اثرگذار بر عملکرد، صفات قطر تاج پوشش، طول برگ و عرض برگ هستند

(۲). بررسی فیتوشیمیایی و مورفولوژیک ۷۱ جمعیت *Thymus* در اسپانیا نشان داد که تغییرات فلاونوئیدها رابطه نزدیکی با ویژگی‌های مورفولوژیک و آناتومیک همه جمعیت‌ها دارد و احتمالاً نتیجه چندشکلی ژنتیکی است (۷). استوانوویک و همکاران گزارش کردند که در بررسی تنوع ریخت‌شناسی پنج جمعیت *T. glabrescens* تغییرات معنی‌داری در طول و عرض برگ و تعداد غده‌های ترش‌خی برگ مشاهده شده که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه باشد (۱۲). در جریان متداول کردن زراعت گیاهان دارویی، بررسی‌های سازگاری این گیاهان به شرایط اقلیمی مختلف و جنبه‌های تکنیکی زراعی، اصلاحی، فراوری، خشک کردن، ارزیابی مواد مؤثره دارویی و استاندارد کردن آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۶).

شناخت توده‌های محلی (فرم‌های اولیه) و حفاظت شده (فرم‌های ثانویه) و انتخاب بهترین و مناسب‌ترین پایه‌ها از بین این توده‌ها و مقایسه با رقم‌های ثبت شده جهانی، ارزش بسیاری در اصلاح آویشن دارد، بطوری‌که بررسی مواد مؤثره و تولید ارقام پر محصول اهمیت زیادی دارند (۶). دورگ‌گیری از مهمترین روش‌های به نژادی تمام گیاهان است و برای انجام دورگ‌گیری آگاهی و مقایسه خصوصیات مورفولوژیکی و میکروسکوپی توده‌ها و ارقام پر محصول خارجی در شرایط آب و هوایی ایران لازم و ضروری است. با توجه به اینکه در خصوص کرک‌های آویشن چنین اقدامی تاکنون صورت نگرفته است، شناسایی این خصوصیات می‌تواند سهم بزرگی در اصلاح این گیاه دارویی با ارزش داشته باشد.

مواد و روش‌ها

بذور آویشن باغی و دو توده آویشن خراسانی

دو توده بذری متفاوت آویشن خراسانی یکی حاصل جمع‌آوری از رویشگاه طبیعی آن در شمال خراسان، منطقه تیوان، و توده دیگر حاصل از بذور جمع‌آوری شده از یک توده زراعی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد بودند و بذور آویشن باغی از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه گردید. بذور در اواخر بهمن سال ۱۳۹۳ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در لیوان‌های یکبار مصرف کشت شدند. قبل از کاشت نشاها در زمین عملیات آماده‌سازی زمین انجام شد. در اسفندماه نشاهای حاصل از گلخانه به زمین اصلی منتقل گردید. فاصله بوته‌ها روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر و بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آبیاری مزرعه بر اساس نیاز گیاه به صورت غرقابی و با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه انجام گرفت. مراقبت‌های لازم در طی فصل رشد انجام و در طی فصل رشد، صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه و

یادداشت برداری قرار گرفتند.

مطالعه میکرومورفولوژی برگ با استفاده از

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)^۱

در ابتدا یک سانتی متر مربع از نمونه را در glutaraldehyde و tetraoxydeosmium تثبیت و سپس با استفاده از الکل اتیلیک (۳۵، ۵۰، ۷۰، ۹۰ و ۹۵ درصد، هر بار ۱۵ دقیقه و الکل خالص سه بار هر بار ۲۰ دقیقه) بدنال آن با استون انیدریک دهیدراته شد. سپس نمونه‌های دهیدراته شده با استفاده از طلا با ضخامت لایه ۳۰-۶۰ آنگستروم پوشانده و در نهایت با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل Leo 1450 VP در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات نوع و اندازه کرک‌های برگ اندازه‌گیری شد (۵).

اندازه‌گیری میزان اسانس

به منظور استخراج اسانس، ۱۰۰ گرم از سرشاخه‌های خشک گیاه در مرحله گلدهی کامل انتخاب و خرد شد و طبق فارماکوپه بریتانیا به مدت ۴ ساعت به کمک دستگاه کلونجر و با استفاده از روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شد. پس از پایان اسانس‌گیری، درصد اسانس نمونه‌ها نسبت به وزن خشک به صورت حجمی-وزنی محاسبه شد. سپس جداسازی اسانس با سرنگ مخصوص جمع‌آوری و توسط سدیم سولفات بدون آب، آبگیری و تا زمان آنالیز توسط دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی مجهز به طیف سنجی جرمی (GC/MS) در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای یخچال نگهداری شد.

برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی مجهز به طیف سنجی جرمی (GC/MS) استفاده شد (۱).

آنالیز آماری

این آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تیمار و ۴ تکرار (هر تکرار شامل ۹ بوته) انجام شد. برای تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی از نرم‌افزار SAS استفاده شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

خصوصیات بیوشیمیایی

درصد اسانس آویشن باغی نسبت به دو توده آویشن خراسانی

مورد مقایسه آماری قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسانس مربوط به نمونه آویشن باغی (۲/۴۲ درصد) و کمترین درصد اسانس مربوط به آویشن خراسانی توده A (۱/۱۷ درصد) بود. مطابق جدول ۱ اسانس گیاه آویشن باغی دارای ۳۱ ترکیب و اسانس آویشن‌های خراسانی دارای ۲۷ ترکیب بودند. ترکیب‌های عمده اسانس شامل تیمول و کارواکرول بوده و ترکیب‌های بورنتول، پارا-سایمن، ۱ و ۸-سینتول و کامفن نیز با درصد کمتری مشاهده شد. مطابق اطلاعات موجود در جداول، بالاترین میزان ترکیب تیمول که اولین ترکیب مهم اسانس آویشن می‌باشد برابر ۶۴/۷۵ درصد و در نمونه آویشن باغی حاصل شد و بیشترین مقدار ترکیب کارواکرول که دومین ترکیب مهم می‌باشد در توده B آویشن خراسانی با ۱۲/۳ درصد مشاهده شد.

خصوصیات مورفولوژیکی

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) صفات طول و عرض برگ، نسبت طول به عرض برگ، ارتفاع بوته، طول گل و غنچه، تعداد ساقه هوایی، بزرگترین قطر تاج پوشش، فاصله دومین میانگره و طول گل‌آذین در سطح ۵ درصد معنی‌دار شدند ولی صفات تعداد گل، عملکرد تر و خشک قسمت‌های هوایی بوته معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه نشان داد که بیشترین طول گل مربوط به توده A آویشن خراسانی (۷/۵ میلی‌متر) و کمترین آن در آویشن باغی (۵/۱ میلی‌متر) بود. حداکثر طول غنچه در آویشن خراسانی توده A (۴/۲۵ میلی‌متر) و حداقل آن در آویشن باغی (۱/۵ میلی‌متر) مشاهده شد. طول و عرض برگ به ترتیب در آویشن خراسانی توده A و B بیشترین (۰/۸۲ و ۰/۳۲ سانتی‌متر) و آویشن باغی کمترین را (۰/۴ و ۰/۱۵ سانتی‌متر) دارا بود. بر اساس نتایج تجزیه واریانس بدست آمده عملکرد تر و خشک بوته معنی‌دار نشد ولی آویشن باغی بیشترین عملکرد را (۲۵۸/۵۲ و ۸۳/۵۷ گرم) داشتند. بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به بوته‌های آویشن باغی با ۷۴/۲۵ سانتی‌متر و کمترین ارتفاع مربوط به توده A آویشن خراسانی با ۳۵/۲۵ سانتی‌متر بود. طول گل و طول غنچه در توده A آویشن خراسانی بیشترین (به ترتیب ۶ و ۳/۵ سانتی‌متر) و در آویشن باغی کمترین طول (به ترتیب ۳/۵ و ۱/۵ سانتی‌متر) را دارا بود. بیشترین طول گل‌آذین مربوط به آویشن باغی (۴/۹ سانتی‌متر) و بیشترین فاصله میانگره مربوط به توده A آویشن خراسانی (۰/۸۷۵ سانتی‌متر) بود. بوته‌های آویشن باغی به طور میانگین دارای بزرگترین قطر تاج پوشش (۷۳/۵ سانتی‌متر) و توده A آویشن خراسانی دارای کوچکترین قطر تاج (۳۹/۷۵ سانتی‌متر) بودند. بیشترین تعداد ساقه هوایی مربوط به بوته‌های آویشن باغی (۱۱۰) بود.

جدول ۱- درصد اجزا تشکیل دهنده اسانس توده‌های آویشن خراسانی و باغی

Table 1- Composition percentage of essential oils of *T. transcaspicus* and *T. vulgaris*

شماره Number	ترکیب‌ها Components	اندیس بازداری Retention index	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. transcaspicus</i> A	<i>T. transcaspicus</i> B
1	α -Thujene	928	0.2	1.02	0.91
2	α -Pinene	934	0.17	1.66	1.25
3	Camphene	950	1.01	5.33	3.78
4	Sabinene	973	1.02	-	-
5	1-Octen-3-ol	976	0.5	0.5	0.8
6	β -Pinene	978	0.36	1.6	2.03
7	Myrcene	990	0.12	0.95	0.51
8	α -Phellandrene	1002	-	0.4	0.1
9	α -Terpinene	1015	0.48	2.88	1.89
10	p-Cymene	1024	4.05	6.1	4.3
11	1,8- Cineol	1033	0.4	0.22	0.37
12	γ -Terpinene	1057	2.89	8.02	6.9
13	(E)-Sabinene hydrate	1061	1.05	0.98	0.92
14	Terpinolene	1087	3.02	0.3	0.1
15	Linalool	1098	1.3	-	0.2
16	Camphor	1143	0.52	1.07	1.6
17	Borneol	1161	0.2	2.01	2.3
18	Thymol methyl ether	1237	2.06	0.3	-
19	Carvacrol methyl ether	1241	0.17	0.55	0.51
20	Thymol	1293	64.75	48.02	50.77
21	Carvacrol	1303	6.78	10.06	12.3
22	β -Bourbonene	1358	-	0.2	0.5
23	β -Caryophyllene	1417	2.9	0.49	0.36
24	Aromadendrene	1439	1.05	0.5	0.2
25	α -Humulene	1454	0.35	-	0.1
26	Germacrene-D	1473	0.41	0.1	-
27	Bicyclogermacrene	1496	0.09	-	-
28	β -Bisabolene	1503	0.14	2.6	1.9
29	γ -Cadinene	1510	0.25	0.4	0.8
30	δ -Cadinene	1522	0.54	0.6	0.7
31	(E)- α -Bisabolene	1533	0.74	-	-
32	Caryophyllene oxide	1581	0.05	0.2	0.1
33	10-epi- γ -eudesmol	1621	0.5	-	-
	Total (%)		98.07	97.06	96.2

خصوصیات میکروسکوپی

نتایج حاصل از بررسی تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که در اپیدرم تحتانی برگ‌های آویشن‌ها از نظر ریخت‌شناسی علاوه بر کرک‌های پوششی، کرک‌های غده‌ای از نوع کرک سپری نیز مشاهده می‌گردند. اندازه کرک‌های سپری و پوششی، پراکنش و تراکم کرک‌ها در برگ آویشن‌های مختلف متفاوت بود و ساختار و تعداد سلول‌های سازنده هر بخش در کرک پوششی بین برگ‌های آویشن‌های مختلف، متفاوت بود. کرک‌های سپری از نوع کرک‌های بدون پایه بودند. بیشترین پراکنش و تراکم هر دو نوع کرک در آویشن باغی مشاهده شد (شکل ۳). ساختار و تعداد سلول‌های سازنده کرک‌های پوششی آویشن باغی متفاوت است. بزرگترین اندازه کرک پوششی در برگ توده A آویشن خراسانی

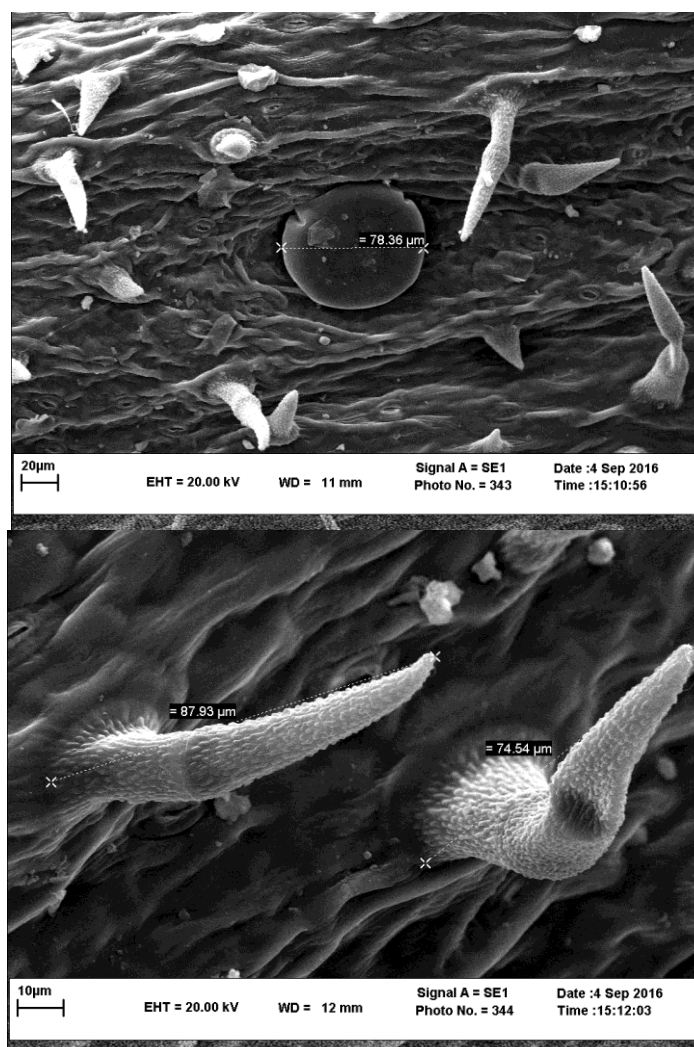
(۸۶/۲۴ میکرومتر) و کوچکترین اندازه مربوط به توده B آویشن خراسانی (۵۴/۰۶ میکرومتر) بود. بزرگترین و کوچکترین اندازه کرک سپری به ترتیب در برگ آویشن‌های توده B آویشن خراسانی (۹۸/۵۸ میکرومتر) و آویشن باغی (۷۳/۱۱) مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).

بحث

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌های صفات بین گونه‌های آویشن، می‌توان گفت که توده A آویشن خراسانی دارای بیشترین طول و عرض برگ، طول گل و غنچه بود و آویشن باغی دارای بیشترین درصد اسانس، ارتفاع بوته، بزرگترین قطر تاج پوشش، عملکرد تر و خشک بود. افلاکیان و همکاران (۱۳۹۱) با مطالعه اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی که از سه استان اصفهان، مرکزی و

گیاهان دارویی، بررسی‌های سازگاری این گیاهان به شرایط اقلیمی مختلف و جنبه‌های آگروتکنیکی، اصلاحی، فراوری، خشکانیدن، ارزیابی مواد مؤثره دارویی و استاندارد کردن آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۶). کرک‌های غده‌ای ساختارهای ترشحي تخصص یافته‌ای هستند که تولید اسانس به وجود آنها بستگی دارد. در گیاهان تیره نعنا کرک‌های غده‌ای مهمترین ساختار ترشحي محسوب می‌شوند و به طور وسیعی روی اندام‌های هوایی رویشی و زایشی توزیع شده‌اند ولی جزئیات ساختاری آنها در بین گونه‌های تیره نعنا متفاوت است. با توجه به اهمیت فراوان صنعتی و دارویی گیاه آویشن تا به حال تحقیقی در مورد ساختار تشریحی و پراکنش کرک‌های غده‌ای آن در ایران صورت نگرفته است.

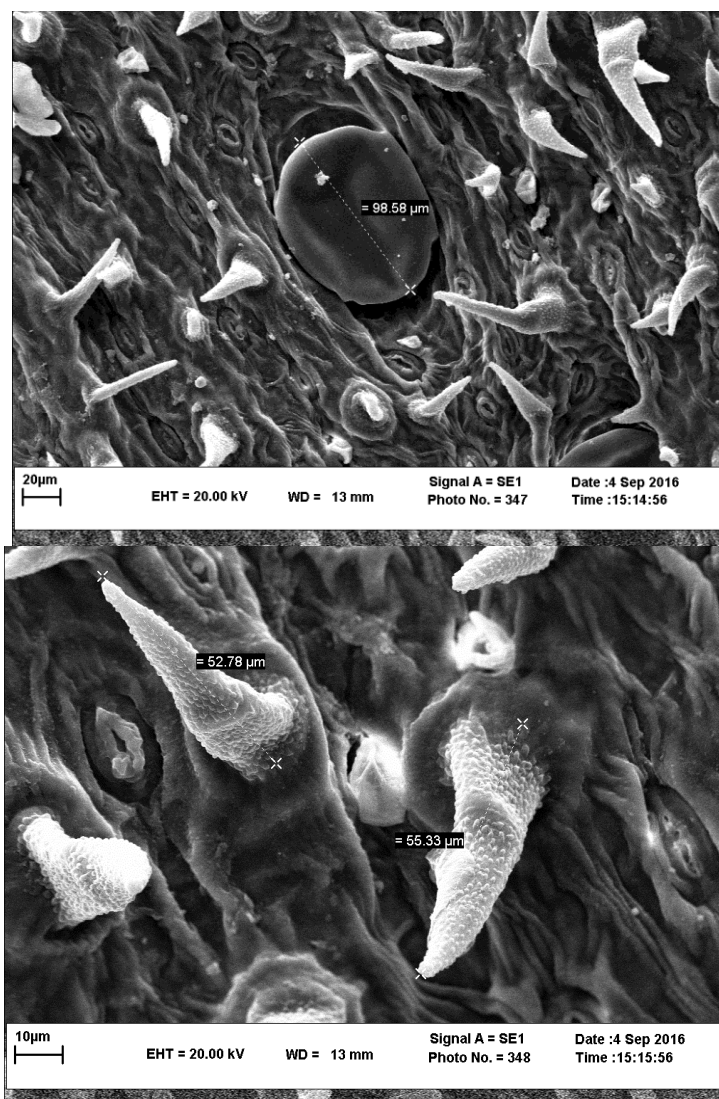
لرستان جمع‌آوری شده بود بیان کردند که اکوتیپ خرم آباد ۱ از نظر عملکرد بوته به سایر اکوتیپ‌ها برتری دارد و مهمترین عوامل اثرگذار بر عملکرد، صفات قطر تاج پوشش، طول برگ و عرض برگ هستند (۲). مطالعات یآوری و همکاران (۲۰۱۰) نشان داده است که آویشن‌های رویشگاه‌های مختلف استان‌های غربی از نظر میانگین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، طول گل آذین، طول کاسه و جام گل و بازده متوسط اسانس با هم متفاوت هستند. محل رویش و نمو گیاهان دارویی، از لحاظ ارتفاع از سطح دریا، شیب و عرض جغرافیایی و تأثیری که این عوامل بر دما، نو و رطوبت نسبی می‌گذارند، در متابولیسم گیاهان دارویی و تغییرات سنتز مواد مؤثره آنها اهمیت زیادی دارد. در جریان متداول کردن زراعت



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن خراسانی توده A

تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایینی: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر

Figure 1- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. transcaspicus* A landrace
Above image: the peltate trichomes in scale 20 µm, Bottom image: the capitae trichomes in scale 10 µm.



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن خراسانی توده B تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایین: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر

Figure 2- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. transcaspicus* B landrace
Above image: the peltate trichomes in scale 20 μm , Bottom image: the capitate trichomes in scale 10 μm .

کرک غده‌ای وجود دارد که شامل کرک سپری، رأسی و انگشت مانند می‌باشد (۱۱). در گیاه مریم گلی کرک‌های پوششی از ۲ تا ۴ سلول تشکیل شده‌اند که در بالای سلول پایه‌ای بزرگ قرار گرفته‌اند (۱۴). در ریحان نیز کرک‌های پوششی یک ردیفی، نوک دار، مستقیم یا عصایی شکل و دارای ۴ تا ۵ سلول با دیواره ضخیم وجود دارند (۵). بنابراین ساختار ترشعی کرک‌های پوششی در آویشن‌های باغی و خراسانی با سایر گونه‌های متعلق به تیره نعنا مطابقت زیادی دارد.

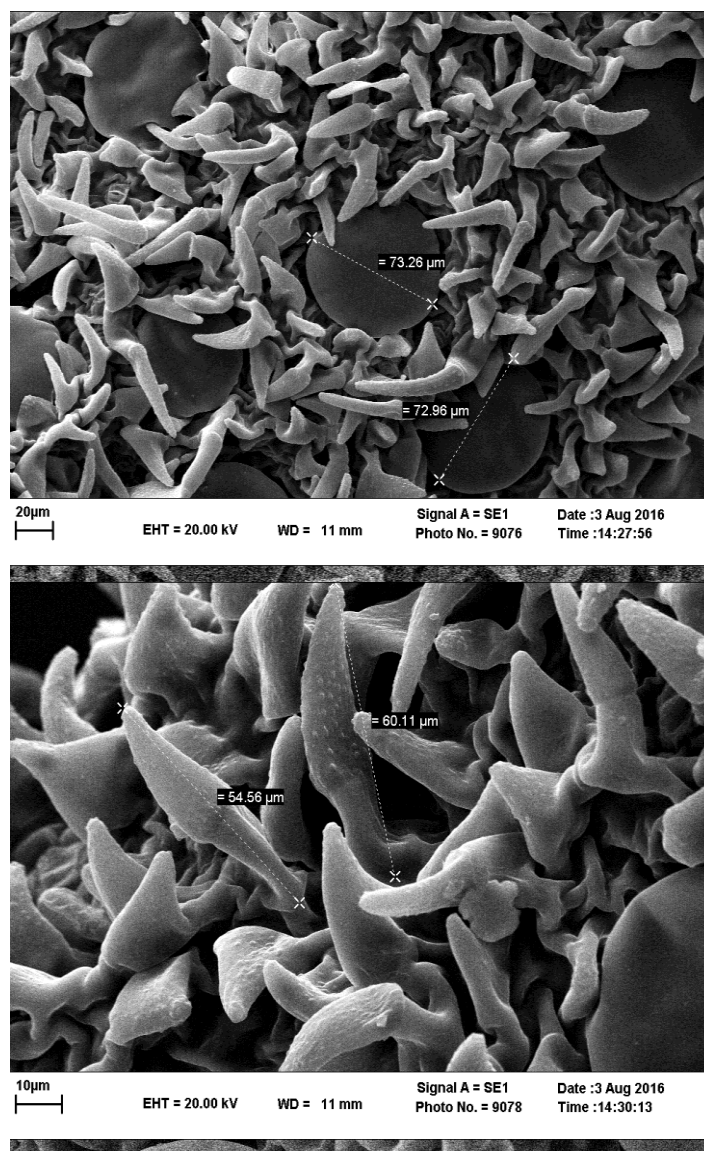
نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که صفاتی مانند طول دومین میانگره، طول و

این پژوهش برای نخستین بار در ایران کرک‌های غده‌ای و پوششی آویشن را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی، مورد بررسی قرار داده است. در اکثر گیاهان تیره نعنا سطح اندام‌های رویشی و زایشی از کرک‌های غده‌ای و پوششی پوشیده شده است (۳). در برگ‌های گیاه آویشن‌های باغی و خراسانی نیز دو نوع کرک پوششی و غده‌ای مشاهده گردید. که هر سه نوع آویشن دارای کرک‌های پوششی ۱، ۲ یا ۳ سلولی هستند که طول آنها متفاوت است ولی تراکم این کرک‌ها در آویشن باغی بیشتر می‌باشد. کرک‌های غده‌ای نیز از نوع سپری بدون پایه تشخیص داده شد. جیا و همکاران گزارش کردند که در *T. quinquecostatus* سه نوع

دارد و از نظر کشت، تولید و برداشت گیاهان دارویی ارزش بالایی دارد. بالا بودن ارتفاع گیاه امکان برداشت مکانیزه توسط ماشین‌های برداشت را فراهم می‌کند که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرد.

عرض برگ، تراکم، سایز و نوع کرک‌ها در برگ و ارتفاع گیاه از مهمترین صفات رویشی بودند که در بین تیمارها دارای تنوع بود. با در نظر گرفتن این نکته که تولید و ذخیره اسانس و قسمت استفاده شده جهت استخراج اسانس اغلب سرشاخه‌های گلدار این گیاه است، طول گل‌آذین، طول و عرض برگ نقش مهمی در بازده تولید اسانس



شکل ۳- تصاویر میکروسکوپی الکترونی از اپیدرم تحتانی برگ بوته‌های آویشن باغی
تصویر بالا: کرک سپری در ابعاد ۲۰ میکرومتر تصویر پایین: کرک پوششی در ابعاد ۱۰ میکرومتر

Figure 3- SEM micrographs showing the leaf adaxial epidermis of *T. vulgaris*

Above image: the peltate trichomes in scale 20 µm, Bottom image: the capitate trichomes in scale 10 µm.

اکثر گیاهان تیره نعنا میزان متوسط اسانس موجود در بافت‌های گیاهی در آغاز گلدهی رو به افزایش است که دلیل عمده‌ی آن مقدار اسانس بیشتر موجود در گل‌آذین‌هاست (۱۰). با شناسایی و مشخص

از نظر صفات زایشی صفاتی همچون تعداد گل در گل‌آذین، طول گل و غنچه می‌تواند مورد توجه قرار گیرند، زیرا بخش‌های زایشی از محل‌های انباشت اسانس محسوب می‌شوند به طوری که در

بیشتر بدلیل غده‌های سپری و پوششی بیشتر به آویشن‌های خراسانی بر اساس برنامه‌های اصلاحی منتقل کرد و می‌توان از این گونه بومی ایران به عنوان جایگزین مناسبی برای گونه اروپایی آویشن باغی جهت مقاصد مختلف، بالاخص کاربردهای دارویی استفاده کرد.

شدن توده‌هایی که دارای ویژگی‌های مطلوب و مورد نظر اصلاح‌گران می‌باشد می‌توان در برنامه‌های اصلاحی گیاه آویشن مورد استفاده قرار داد. با توجه به نتایج بدست آمده با دورگ‌گیری از آویشن باغی به عنوان پایه، می‌توان خصوصیات مطلوب آویشن باغی مانند ارتفاع بوته، بزرگترین قطر تاج پوشش، عملکرد تر و خشک و درصد اسانس

منابع

1. Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Allured, USA, 750p.
2. Aflakian S., Zeinali H., Madah Arefi H., Enteshari Sh., and Kaveh Sh. 2012. Study of eleven ecotype yield daenensis thyme (*Thymus daenensis* Celak). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28(2): 187-197. (In Persian with English Abstract)
3. Ascensao L., and Marques M. S. 1995. Annals of Botany. 75, 619p.
4. Azizi M., Ghazian Tafreshi G., and Mirmostafae S. 2015. Breeding of medicinal plants. Nokhost Press. 132p. (In Persian)
5. Bezic N., Dunkic V., and Radonic A. J. 2001. Flar. Frag. 16, 157p.
6. Davazdah Emami S., and Majnonolhosseini N. 2009. Plant and produce of medicinal plants and spice. Tehran of University. 300p. (In Persian with English Abstract)
7. Horwath A.B., Grayer R.J., Keith-Lucas D.M., and Simmonds M.S. 2008. Chemical characterization of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in south-east Spain. Biochemical Systematics and Ecology 36(2): 117-133.
8. Jamzad Z. 2010. *Thymus* and *Satureja* of Iran. Press of Forests and Meadows of Country. Tehran. P. 171. (In Persian)
9. LÓPEZ-PUJOL J.O.R.D.I., Bosch M., Simon J., and Blanche C. 2004. Allozyme diversity in the tetraploid endemic *Thymus loscosii* (Lamiaceae). Annals of Botany 93(3): 323-332.
10. Majd A., Nejad Satari T., Khavari Nejad R., and Dousti B. 2010. Study of qualitative and quantitative changes of volatile compounds Savory Khuzestan (*Satureja khuzistanica* Jamzad) during plant development and antimicrobial properties of essential oils in terms of In vitro. Journal of Islamic Azad University. 18: 51-60. (In Persian with English Abstract)
11. Ping J., Hanzhu L., Ting G., and Hua X. 2013. Glandular Trichomes and Essential Oil of *Thymus quinquecostatus*. The Scientific World Journal 1-9.
12. Stevanovic D., Sostaric I., Marin P.D., Stojanovic D., and Ristic M. 2008. Population variability in *Thymus glabrescens* Willd. From Serbia: morphology, anatomy and essential oil composition. Archives of Biological Science Belgrade. 60(3): 475-483.
13. Vejdani H. 2002. Investigation produce and export of Iranian medicinal plant. National congress on medicinal plants of Iran. Karaj. Institute of research Forests and Meadows of Country. (In Persian with English Abstract)
14. Venkatachalam K. V., Kjonass R., and Croteao R. 1984. Plant Physiology. 76, 148p.
15. Vernet P., Gouyon R. H., and Valdeyron G. 1986. Genetic control of the oil content in *Thymus vulgaris* L: a case of polymorphism in a biosynthetic chain. Genetica, 69(3), 227-231.
16. Yavari A., Nazari V., and Hassani M. 2010. Study of some ecological characteristics, morphological and essential oil content of thyme in Azarbijan. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 2: 227-239. (In Persian with English Abstract)



A Comparison of Morphological Characteristics, Composition and Essential Oils Content of *Thymus vulgaris* and Two Landraces of *Thymus transcaspicus* in Mashhad Region Climate

S. Mohammadi¹ - M. Azizi^{2*} - J. Vaezi³

Received: 13-03-2017

Accepted: 06-01-2018

Introduction: Thyme is a perennial plant belongs to Lamiaceae. *Thymus* is a well-known medicinal plant, native to Southern Europe and its essential oil is manufactured commercially for use in cough drops, mouth-washes, liniments, toothpastes, detergents and perfumes. The herb is approved by Commission E in the treatment of bronchitis, whooping cough and upper respiratory inflammation. The *Thymus* genus comprises over 300 species of which, 18 are found in Iran, which grow wild in many regions and four of them are endemic. There are serious difficulties in the taxonomical interpretation of the taxa belonging to the genus *Thymus* owing to the high variability of populations with respect to many morphological and micro-morphological traits. The morphology and different components of essential oils in different species of *Thymus* are variable due to hybridization and polyploidization, despite its rare self-pollination. In general, intraspecific hybrids of the genus *Thymus* seem to possess intermediate morphological characteristics and composition of essential oil in comparison with the relevant characteristics of the parent plants. The accumulation of the essential oil takes place in gland hairs, which are distributed on the surface of the epidermis of the aerial parts of the plant. The content of the essential oil can depend on origin, climate, harvest, as well as drying and storage conditions. By carefully examining the structural, phenotypic, chemical and genetic aspects of the natural populations of a plant, it is possible to select either them or samples from them as an important step in the process of breeding the desired medicinal plant.

Material and Methods: In order to have a comparison microscopically and morphologically characteristics of *Thymus vulgaris*, two landraces of *Thymus transcaspicus* were studied in completely randomized design with four replications at the faculty of Agriculture in Ferdowsi University of Mashhad. Inflorescence length, number of flowers per inflorescence, shoot height, leaf, bud and flower length, leaf width, the largest diameter of canopy, weight, fresh and dry herb yield, percent of essential oil, distinct and type of trichomes, were measured. For glands morphological and structure analysis leaves were processed according to conventional techniques for scanning electron microscopy (SEM). In order to obtain comparable results the leaves from the third node of the apex were used for SEM analyses. Leaf samples were fixed in glutaraldehyde and paraformaldehyde. After being dehydrated, they were coated with gold in the vacuum evaporator. Finally, the preparations were observed and photographed with a KYKY-2800B SEM.

Results and Discussion: The ANOVA of the data showed that there was considerable variation for all studied characters. Results of mean comparisons showed that the highest height, the largest diameter of canopy and percent of essential oil were for *T. vulgaris*. Maximum inflorescence length, number of flowers per inflorescence, leaf, bud and flower length, leaf width, was also recorded for *T. transcaspicus*. Results of essential oil (EOs) analysis by GC/MS showed that thymol and carvacrol were the major compounds of all EOs samples, with highest and lowest content observed thymol and carvacrol in *T. vulgaris* (64.75 and 6.78 %). *T. vulgaris* produced more essential oil as compared to another thyme species. Two types of glandular trichomes are distributed on the outside surface of leaf, namely, peltate ones (PGTs) and capitate ones (CGTs). The glandular hairs of Lamiaceae likely release various secretions, such as the essential oil and polysaccharide. When trichomes got matured, essential oil could be found on all of the glandular trichomes on aerial organs of *Thymus*. Besides essential oil, what else trichomes could secrete needs further study.

Conclusion: The essential oil is highly complex chemical compounds. The content and composition of it vary depending on season, growing conditions, and plant species. High essential oil content is related to a much

¹ and ²- Ph.D. Student and Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively

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

³- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad

secretion of glandular trichomes. An application for variety protection was filed for '*T. vulgaris*', now recommended to producers in Mashhad interested in a thymol-rich thyme. We can carry out a selection program to optimize quality and yield of thyme (*T. transcaspicus* L.) landraces, with used of *T. vulgaris* and crossing with clones of *T. transcaspicus*.

Keywords: SEM, *T. transcaspicus*, *Thymus vulgaris*



پراوری شاخساره درون‌شیشه‌ای گلابی رقم شکری تحت تاثیر عناصر غذایی محیط کشت در

فضای نرم افزار Design Expert

ساجده کریم‌پور^۱ - غلامحسین داوری‌نژاد^{۲*} - محمد زکی عقل^۳ - محمدرضا صفرنژاد^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۹

چکیده

بمنظور بهبود رشد شاخه‌های باززایی شده گلابی رقم شکری آزمایشی در فضای نرم افزار Design Expert در قالب ۲۰ نقطه شامل مقادیر تصادفی از سه فاکتور عناصر غذایی (NH_4NO_3 ، آهن و عناصر میکرو) اجرا شد. پاسخ ریزنمونه‌ها از نظر تعداد شاخه پراوری شده، طول شاخه پراوری شده، تعداد برگ، مقدار کلروفیل a برگ، کارتنوئید برگ و قدرت رشدی بعد از دو ماه ثبت گردید. فاکتورهای مورد بررسی در قالب مدل‌های حاصل از تجزیه آماری (مدل‌های خطی، چندجمله‌ای ساده و چندجمله‌ای درجه دوم) بر پاسخ‌های مورد ارزیابی بطور معنی‌داری موثر بودند. افزایش آهن تا یک و نیم برابر و کاهش NH_4NO_3 به نصف غلظت آن‌ها در محیط کشت MS باعث افزایش تعداد شاخه پراوری شده (۴/۴۳ برابر) گردید. NH_4NO_3 ، آهن $\times$ عناصر میکرو رابطه‌ی خطی منفی با طول شاخه نشان دادند درحالی‌که تعداد برگ بطور منفی متأثر از عناصر میکرو بود. با افزایش NH_4NO_3 از طول شاخه پراوری شده کاسته شد و از طرف دیگر مقادیر $\times 0/5$ و $\times 1$ محیط کشت MS به ترتیب برای آهن و میکرو باعث افزایش ۱/۵ برابری در طول شاخه شد. شاخه‌های رشد یافته در محیط کشت حاوی $\times 1$ مقادیر میکرو در محیط کشت پایه MS به میزان ۱/۵ برابر برگ بیشتری نسبت به مقادیر $\times 2$ تولید کردند. محتوی کلروفیل a و کارتنوئید برگ در قالب مدل خطی تحت تاثیر مقادیر آهن (مثبت) و NH_4NO_3 (منفی) قرار گرفتند. افزایش آهن تا ۱/۵ برابر و کاهش NH_4NO_3 تا $\times 0/5$ برابر محیط کشت پایه MS باعث افزایش ۲ برابری در میزان کلروفیل a و کارتنوئید شد. NH_4NO_3 و میکرو در قالب رابطه خطی منفی رشد رویشی را تحت تاثیر قرار دادند بطوریکه نصف مقادیر NH_4NO_3 با افزایش تعداد شاخه پراوری شده و طول شاخه موجب افزایش قدرت رشدی شاخه تا ۲/۵ برابر شاهد گردید و کاهش مقادیر میکرو از طریق افزایش طول شاخه بر قدرت رشدی تاثیر مثبت داشت. محیط کشت بهینه شده برای گلابی شکری با استفاده از نرم افزار Design Expert محیط کشت MS تغییر یافته به ترتیب حاوی $\times 0/9$ ، $\times 1$ و $\times 0/5$ مقادیر آهن، میکرو و NH_4NO_3 بود.

واژه‌های کلیدی: ازدیاد درون‌شیشه‌ای، *Pyrus communis*، Response surface method، میکرو، آهن

مقدمه

می‌باشد. با این وجود بدلیل اینکه پاسخ به محیط کشت اغلب وابسته به ژنوتیپ بوده و تاثیرات مواد غذایی روی مورفوزنیز بطور خیلی ضعیفی مورد بررسی قرار گرفته است، توسعه یک محیط کشت بهینه برای یک محصول ویژه کاملاً پیچیده است (۱۴ و ۲۱). در ارتباط با اهمیت نمک‌های موجود در محیط کشت برای گلابی آزمایشاتی انجام گرفته است (۳۷، ۳۸، ۴۵، ۴۶ و ۴۷). بسیاری از گیاهان و ارقام ریکالسیترانت^۵ یا رشد کند به محیط کشت‌های هورمونی (تنظیم کننده های رشد گیاهی) مختلف و یا محیط کشت‌های رایج MS و WPM بهینه شده پاسخ نمی‌دهند. بدلیل تنوع ژنتیکی وسیع یافت شده در کلکسیون‌های ژرم پلاسماهای گلابی (*Pyrus sp.*)، پاسخ‌های رشدی متنوعی به محیط کشت‌های مختلف دیده شده

ریزازدیادی علاوه بر اینکه نقش مهمی در تولید سریع و بهره‌برداری از ارقام محصولات باغی جدید دارد، وسیله‌ای را جهت ذخیره ژرم‌پلاسما و نگهداری ذخایر عاری از ویروس فراهم می‌آورد (۳۶). برای ازدیاد و ذخیره درون‌شیشه‌ای ماده گیاهی، انتخاب محیط کشت مناسب یکی از مهم‌ترین مراحل در توسعه پروتکل ریزازدیادی

۱ و ۲- فارغ التحصیل مقطع دکتری و استاد گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*) نویسنده مسئول: (Email: davarynej@um.ac.ir)

۳- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- دانشیار، بخش ویروس شناسی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.70420

است (۲، ۳ و ۲۴)، و بسیاری از گونه‌ها و ارقام گلایی روی محیط کشت‌های استاندارد مختلف بسختی واکنش مثبتی نشان می‌دهند (۳۵) ولی محیط کشت MS معمولاً برای باززایی شاخه در گونه‌های گلایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲ و ۶). عناصر غذایی نقش مهمی را در تنظیم رشد و نمو گیاهی بر عهده دارند (۳۴). کمبود عناصر غذایی بخوبی در شرایط مزرعه‌ای مطالعه شده (۴) اما به روشنی در شرایط درون‌شیشه‌ای مورد بررسی قرار نگرفته است. رشد گیاه روی محیط کشت‌های غیربهینه ممکن است بوسیله‌ی غلظت‌های بالاتر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی جبران شود و محیط کشت‌های بهینه ممکن است نیازمند غلظت‌های پایین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای رشد مناسب گیاه باشند (۳۲). تعیین مکانیسم‌های در دسترس مواد غذایی که رشد گیاه را کنترل می‌کند یک چالش عمده در زیست‌شناسی گیاهی است، و اثرات متقابلی که در جذب مواد غذایی موثر هستند آن‌را بیشتر دچار چالش می‌کند (۱۵).

در حال حاضر طرح‌های آزمایشی و نرم افزارهای آماری بهبودیافته روش‌های بسیار کارآمدتری را برای بهینه‌سازی محیط کشت و شرایط ریزاریادی فراهم می‌کنند (۱۲، ۱۳ و ۲۸). در روش‌های سطح پاسخ^۱، هر فاکتور موثر به عنوان یک بعد هندسی در نظر گرفته می‌شود که منجر به یک حجم هندسی با n بعد می‌شود. این حجم فضای طرح آزمایشی است که مطابق اهداف آزمایش نمونه‌گیری می‌شود. به‌منظور نمونه‌گیری از فضای طرح تعدادی از نقاط ایجاد می‌شود. پاسخ‌های حاصل از هر یک از نقاط طراحی شده، اندازه‌گیری می‌شوند و بدین صورت انواع فرمولاسیون‌ها برای بهترین پاسخ تعیین می‌شود، از اینرو آزمایشات چندعامله اطلاعات زیادتتری را نسبت به تست‌های تک عامله فراهم می‌کند (۲۸). مطالعات چندفاکتوره می‌تواند راه حل مناسبی برای درک چگونگی تاثیر فاکتورهای محتمل بر پاسخ‌های مورد نظر باشد. طراحی آزمایشات پیشرفته و روش‌های سطوح پاسخ جهت بهینه‌سازی محیط کشت برای کشت شاخه و کالوس برخی گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (۲۷، ۲۸، ۲۹ و ۳۰). همچنین مطالعات متعددی به روش سطح پاسخ و با استفاده از نرم افزار Design Expert به‌منظور بهینه‌سازی ساختن عناصر غذایی محیط کشت برای ارقام گلایی صورت گرفته‌است (۳۷ و ۳۸). در این آزمایشات بر اساس آنالیز پنج فاکتور عناصر غذایی از محیط کشت MS (گروه مزوز^۲: CaCl_2 ، KH_2PO_4 و MgSO_4 ؛ KNO_3 ؛ NH_4NO_3 ؛ عناصر میکرو و آهن) در رشد درون شیشه‌ای پنج نوع گلایی با استفاده از طرح پاسخ سطحی چند

فاکتوری^۳ ترکیبات مزوز بیشترین تاثیر را داشتند. عناصر غذایی هم‌چنین مورفوزنیز رو تحت تاثیر قرار می‌دهد. برای مثال شاخه‌های رشد یافته روی محیط کشت با غلظت‌های بالای آهن نسبت به شاهد (محیط کشت MS) معمولاً کوتاه شدند درحالی‌که شاخه‌ها روی محیط کشت‌های غنی از مزوز رشد قویتری داشتند و برگ‌های بزرگی تولید کردند. پرآوری شاخه هم‌چنین می‌تواند توسط دستکاری عناصر غذایی بدون تغییر تنظیم‌کننده‌های رشد تحت تاثیر قرار گیرد (۳۷ و ۳۸).

کیفیت ریزافزانه تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای (تعداد شاخه پرآوری شده و طول شاخه) بطور موثری تحت تاثیر عناصر MgSO_4 ، CaCl_2 و KH_2PO_4 قرار گرفت که با توجه به ژنوتیپ‌های گلایی بسیار متغییر بود (۴۶). شاخه‌های پرآوری شده گلایی رقم $\square$ شکری در محیط کشت استاندارد MS غنی شده با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA رشد طولی مناسب و توسعه طبیعی برگ‌ها دیده نشد لذا به منظور بهبود خصوصیات رویشی ریزافزانه‌های درون شیشه‌ای این رقم آزمایش چندفاکتوره شامل تعدادی از فاکتورهای تغذیه‌ای محیط کشت موثر در نظر (۳۷ و ۴۶) گرفته شدند. هدف از اجرای این آزمایش استفاده از روش RSM^4 برای یافتن مقادیر بهینه تعدادی از عناصر غذایی محیط کشت MS برای گلایی رقم $\square$ شکری و همچنین نشان دادن اهمیت استفاده از این روش در بهینه‌سازی رشد درون شیشه‌ای مواد گیاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه گیاهی: از شاخه‌های درون شیشه‌ای گلایی رقم $\square$ شکری کشت شده در شیشه‌های ۲۰۰ میلی لیتری حاوی ۳۰ میلی لیتر محیط کشت استاندارد MS غنی شده با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA (۳۰ گرم بر لیتر ساکارز، ۸ گرم بر لیتر آگار) استفاده شد. جهت اجرای آزمایش شاخه‌هایی بطول ۱/۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفتند. شاخه‌ها درون شیشه‌های ۹۰ میلی‌لیتری هر کدام حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت و یک نمونه گیاهی نگهداری شدند.

طرح آماری: روش کار همانطور که توسط رید و همکاران (۳۷) اشاره شده است بصورت مختصر بدین صورت می‌باشد؛ (۱) فضای طراحی سه بعدی تعریف شده بوسیله‌ی نمک‌های محیط کشت MS یا یک گروه از نمک‌های آن ایجاد شد و (۲) پرآوری شاخه‌های گلایی روی ترکیب‌های تیماری بیان شده به‌عنوان نقاطی داخل یا روی

۳- Multifactor surface response design

۴- Response Surface Methodology

۱- Surface response method

۲- Mesos

اصلی در فتوسنتز) و کارتنوئید به روش اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد (۷).

آنالیز آماری: میانگین پنج تکرار به عنوان پاسخ برای هر نقطه مورد استفاده قرار گرفت. بالاترین مرتبه از مدل چندجمله‌ای که حداقل در سطح ۵ درصد برای هر پاسخ معنی‌دار بود با استفاده از تجزیه واریانس آنالیز گردید (۲۷، ۲۸ و ۲۹). نرم افزار Design-Expert® 8 (2010) برای طراحی، ارزیابی مدل و تجزیه و تحلیل مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که سه فاکتور مورد بررسی (آهن، میکرو و NH_4NO_3) در قالب مدل‌های خطی، چندجمله‌ای درجه ساده و چندجمله‌ای درجه دوم بر تمامی پاسخ‌های مورد ارزیابی بطور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) موثر بودند (جدول ۲). مدل‌های پاسخ که نشان دهنده تاثیر فاکتورهای مورد بررسی بر هر پاسخ است در شکل‌ها آورده شده است.

سطح فضای سه بعدی طراحی شده ارزیابی شدند، ۳ درنهایت یک معادله پیش‌بینی شده برای هر پاسخ تولید شد. سه فاکتور عناصر غذایی بر اساس نمک‌های محیط کشت MS ایجاد شد که هر فاکتور براساس غلظت‌هایی از محیط کشت MS متغیر بودند ($\times \text{MS}$). $\times 0.5$ تا $\times 1.5$ برای آهن ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ و Na_2EDTA) و NH_4NO_3 و $\times 1$ تا $\times 2$ برای عناصر میکرو (KI ، $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، H_3BO_3 ، $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ، $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) و $\times 20$ نقطه بصورت تصادفی در قالب طرح D-optimal (۳۷ و ۴۷) برای فاکتورهای مورد نظر ایجاد شد (جدول ۱، شکل ۱). تمامی ۲۰ نقطه طراحی شده بطور همزمان اجرا شدند. برای هر تیمار ۵ تکرار (هر تکرار شامل یک شاخه در شیشه‌های ۹۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت) در نظر گرفته شد و بعد از دو بار واکنش به فاصله ۴ هفته در همان محیط کشت ثبت داده صورت گرفت.

داده برداری: صفات مورد بررسی تعداد شاخه پرآوری شده، طول شاخه پرآوری شده (میلی‌متر)، تعداد کل برگ‌های تولید شده، کلروفیل a برگ (میلی گرم برگ‌گرم)، کارتنوئید برگ (میلی گرم برگ‌گرم) و قدرت رشدی ((تعداد شاخه پرآوری شده $\times$ طول شاخه پرآوری شده) + طول شاخه اصلی؛ میلی‌متر) بود. میزان کلروفیل a (به عنوان رنگدانه

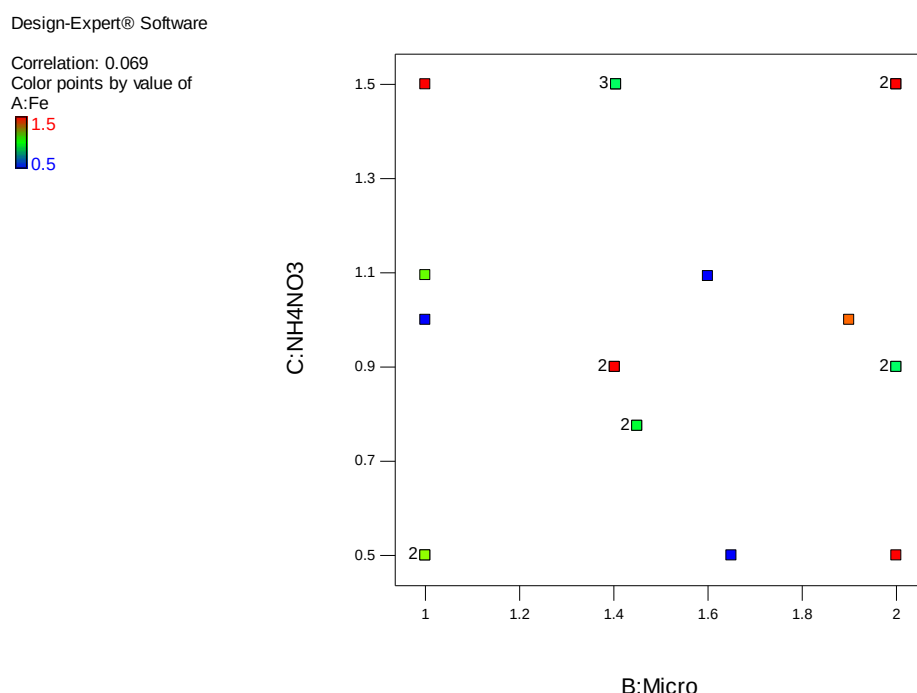
جدول ۱- طرح سه فاکتوری (آهن، میکرو و NH_4NO_3) طراحی شده توسط نرم افزار Design-Expert شامل ۲۰ نقطه مدل مورد استفاده جهت پرآوری گلابی رقم 'شکری' در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 1- Three-factor design (Fe, Micro and NH_4NO_3) was designed by Design-Expert software including 20 model points used for *in vitro* shoot proliferation of *Pyrus communis* cv. 'Shekari'

نقاط تیماری طراحی شده Treatment design points	فاکتور اول Factor 1 NH_4NO_3	فاکتور دوم Factor 2 Fe	فاکتور سوم Factor 3 Micro
1	1	1	0.5
2	1.5	2	1.5
3	0.5	1	0.5
4	1.5	2	0.5
5	1.5	1	1.5
6	0.5	1.6	0.5
7	1.5	1.4	0.9
8	0.9	2	0.9
9	0.9	1.4	1.5
10	0.5	1	1.1
11	1.1	1.6	0.5
12	0.5	2	1.5
13	0.9	2	0.9
14	1.5	1.4	0.9
15	1	1.9	1.4
16	0.9	1.4	1.5
17	1.5	1.4	0.9
18	0.8	1.4	0.9
19	0.8	1.4	0.9
20	1	1	1

نقاط طراحی شده بصورت تصادفی بودند. نقطه ۲۰ مقادیر محیط کشت MS ($\times 1$) می‌باشد.

Design points were randomly assigned. Point 20 is MS amount ($\times 1$) of three factors.



شکل ۱- پراکنش نقاط طراحی شده در نرم افزار Design-Expert برای سه فاکتور Fe، میکرو و NH_4NO_3 . اعداد نشاندهنده تکرار در نقطه می باشند.

Figure 1- Points were designed by Design-Expert software for three-factor Fe, Micro and NH_4NO_3 . Numbers indicate replication in a point.

ندل چوآ (۲۵) و ال-مری و همکاران (۱) دریافتند که پرآوری ارقام 'Bartlett' و 'Passe Crassane' در محیط کشت QL (۳۳) که کمترین میزان NH_4^+ را داشت بهترین بود. *Pyrus pyrifolia* (Burm. F.) Nakai.I در محیط کشت WPM (۲۱) که حاوی یک چهارم مقادیر NH_4^+ نسبت به محیط کشت MS است تعداد شاخه بیشتری تولید کرد (۴۴). گونه‌های مختلف گلابی *communis* cvs. *P. pyrifolia* cv. Sion Szu Mi و *P. OH×F 87*, Horner 51 مقادیر پایین NH_4^+ و NO_3^- بیشترین تعداد شاخه را تولید کردند (۴۶). مطابق با نتایج این آزمایش آهن در تولید شاخه در شرایط درون شیشه ای موثر است بطوریکه گزارش شده است کاهش جذب آهن القا شده توسط غلظت‌های بالای فسفر باعث کاهش تولید شاخه در تنباکو شد (۳۴). همچنین رید و همکاران (۳۷) مشاهده کردند در ژنوتیپ‌های *Pyrus* تعداد شاخه پرآوری شده تحت تاثیر فاکتور NH_4NO_3 و آهن قرار گرفت بطوریکه کاهش NH_4NO_3 تا نصف غلظت محیط کشت MS به همراه افزایش میزان آهن تا یک و نیم برابر غلظت محیط کشت پایه MS تعداد شاخه پرآوری شده در *OH×F87* را افزایش داد که با آنچه برای گلابی رقم شکر □ بدست آمد مطابقت دارد.

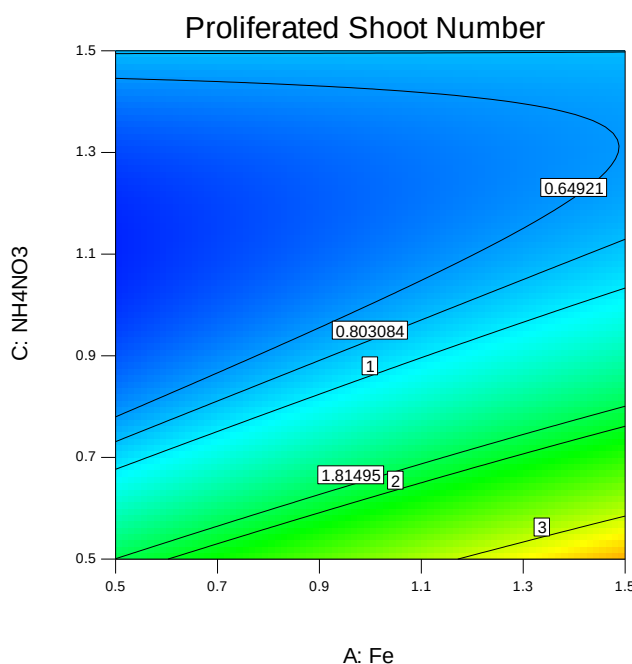
تعداد شاخه پرآوری شده: همانطور که در نمونه جدول

تجزیه واریانس جدول ۳ آورده شده است مدل چندجمله‌ای درجه دوم برای پاسخ تعداد شاخه پرآوری شده معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$). تعداد شاخه پرآوری شده بصورت خطی با مقادیر آهن تغییر کرد درصورتیکه تابعی درجه دو از NH_4NO_3 بود. آهن و NH_4NO_3 ($p \leq 0.01$) به ترتیب رابطه مثبت و منفی بر تعداد شاخه پرآوری شده نشان دادند ولی NH_4NO_3 فاکتور موثرتری بود (جدول ۲). افزایش مقادیر آهن تا ۱/۵ برابر محیط کشت پایه MS و کاهش مقدار NH_4NO_3 تا ۰/۵ برابر مقادیر محیط کشت پایه MS (۳/۵ شاخه بر ریزنمونه) تولید شاخه را نسبت به شاهد (۰/۸ شاخه بر ریزنمونه) افزایش داد (شکل ۲). نیتروژن به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد ریزنمونه به دو فرم نیترات و آمونیوم در محیط کشت استفاده می‌شود (۱۰). نوع و مقدار منبع نیتروژن مورد نیاز بستگی به ژنوتیپ دارد. بطور واضح نیترات نوع مناسب منبع نیتروژن برای اغلب گونه‌ها است و فرم قابل دسترس در اکثر محیط‌های کشت می‌باشد (۱۸، ۲۶ و ۴۰). تفاوت‌های مشخصی بین گونه‌های گلابی در ارتباط با مقادیر، فرم و نسبت‌های مختلف نیتروژن برای تولید شاخه‌های با کیفیت گزارش شده است بطوریکه برای گونه *P. communis* غلظت‌های بالای NO_3^- و غلظت‌های پایین تا متوسط NH_4^+ مناسب بودند (۴۵).

جدول ۲- خلاصه نتایج آنالیز آماری و فرمول خروجی مدل برای شش پاسخ پرآوری در شاخه‌های درون‌شیشه‌ای گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر سه فاکتور تغذیه‌ای
Table 2- Summary of statistical analysis results and model output formula for six shoot proliferation responses of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' shoots *in vitro* affected by three mineral nutrient factors

پاسخ Response	p-value			Formula	R-Squared
	Model	Factors	Lack of fit		
تعداد شاخه پرآوری شده (مدل چندجمله‌ای درجه دوم) Proliferated Shoot Number (Quadratic Model)	0.001	Fe: 0.038 NH ₄ NO ₃ : 0.0003 NH ₄ NO ₃ ² : 0.003	0.248	$Y = 0.69 + 0.43 \text{ Fe} - 0.91 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + 1.01 \text{ NH}_4\text{NO}_3^2$	0.63
طول شاخه‌های پرآوری شده (مدل چندجمله‌ای درجه ساده) (2FI Model) Proliferated Shoot Length	0.002	Micro: 0.014 NH ₄ NO ₃ : 0.018 Fe × Micro: 0.042	0.269	$Y = 0.78 - 0.31 \text{ Micro} - 0.31 \text{ NH}_4\text{NO}_3 + 0.33 (\text{Fe} \times \text{Micro})$	0.59
تعداد برگ کل (مدل خطی) Total Leaf Number (Linear Model)	0.008	Micro: 0.008	0.106	$Y = 12.37 - 2.59 \text{ Micro}$	0.43
کلروفیل a برگ (مدل خطی) Leaf Chlorophylls a (Linear Model)	0.013	Fe: 0.020 NH ₄ NO ₃ : 0.0343	0.157	$Y = 13.30 + 4.70 \text{ Fe} - 4.29 \text{ NH}_4\text{NO}_3$	0.40
کاروتنوئید برگ (مدل خطی) Leaf Carotenoids (Linear Model)	0.009	Fe: 0.017 NH ₄ NO ₃ : 0.023	0.547	$Y = 1353.75 + 476.58 \text{ Fe} - 457.20 \text{ NH}_4\text{NO}_3$	0.42
رشد رویشی (مدل خطی) Vegetative Growth (Linear Model)	0.0005	Micro: 0.008 NH ₄ NO ₃ : 0.0013	0.149	$Y = 5.71 - 1.77 \text{ Micro} - 2.29 \text{ NH}_4\text{NO}_3$	0.59

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Proliferated Shoot Number
4.33333
0
X1 = A: Fe
X2 = C: NH₄NO₃
Actual Factor
B: Micro = 1.5



شکل ۲- تعداد شاخه پرآوری شده در گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر مقادیر آهن و NH₄NO₃ در شرایط درون شیشه‌ای.

Figure 2- The proliferated shoot numbers of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' under different concentrations of Fe and NH₄NO₃ in *in vitro* condition.

جدول ۳- نمونه‌ای از جزئیات تجزیه واریانس برای پاسخ تعداد شاخه پرآوری شده در گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر مقادیر آهن و NH₄NO₃ در شرایط درون شیشه‌ای.

Table 3- Sample ANOVA and summary statistics for proliferated shoot numbers response of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' under different concentrations of Fe and NH₄NO₃ in *in vitro* condition.

منبع Source	جمع مربعات Sum of squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square	F value	p value (Prob>F)
Model		4	3035	8.39	0.0009
Fe	2.067	1	2.07	5.15	0.0379
NH ₄ NO ₃	9.037	1	9.04	22.65	0.0003
Fe× NH ₄ NO ₃	1.212	1	1.21	3.04	0.1017
NH ₄ NO ₃ ²	4.921	1	4.29	12.34	0.0031
Residual		15	0.40		
Lack of Fit	4.735	10	0.47	1.90	0.248
Pure Error	1.248	5	0.25		
Cor Total	19.367	19			
SD	0.63		R squared	0.69	
Mean	1.19		Adj R squared	0.61	
CV%	53.07		Pred R squared	0.35	
Press	12.54		Adeq Precision	10.82	

تجزیه واریانس برای مدل سطح پاسخ چندجمله‌ای درجه دوم کاهش یافته. جدول تجزیه واریانس (جمع مربعات کلاسیک- نوع II).
ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model. Analysis of variance table (classical sum of squares—type II).

آهن × میکرو ($p \leq 0.05$) بر طول شاخه‌های پرآوری شده موثر بود که نشان دهنده اثر بیشتر عناصر میکرو بر طول شاخه پرآوری شده است (جدول ۲). کاهش NH₄NO₃ بصورت خطی (شکل ۳، a) و

طول شاخه پرآوری شده: مدل چندجمله‌ای درجه ساده برای پاسخ طول شاخه‌های پرآوری شده معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$) بطوری‌که فاکتورهای NH₄NO₃ ($p \leq 0.01$)، میکرو ($p \leq 0.01$) و اثر متقابل

داد بطوریکه کاهش آهن تا $\times 0.5$ و مقادیر میکرو معادل محیط کشت MS باعث افزایش $1/5$ برابری در طول شاخه شد. رابطه منفی غلظت آهن با طول شاخه در گلابی گزارش شده است (۳۷).

کاهش مقادیر آهن $\times$ میکرو بصورت متقابل طول شاخه پرآوری شده را افزایش داد (شکل ۳، b). همانطور که انتظار می‌رود آهن که اثر مثبت بر تعداد شاخه پرآوری شده داشت اثر منفی بر طول شاخه نشان

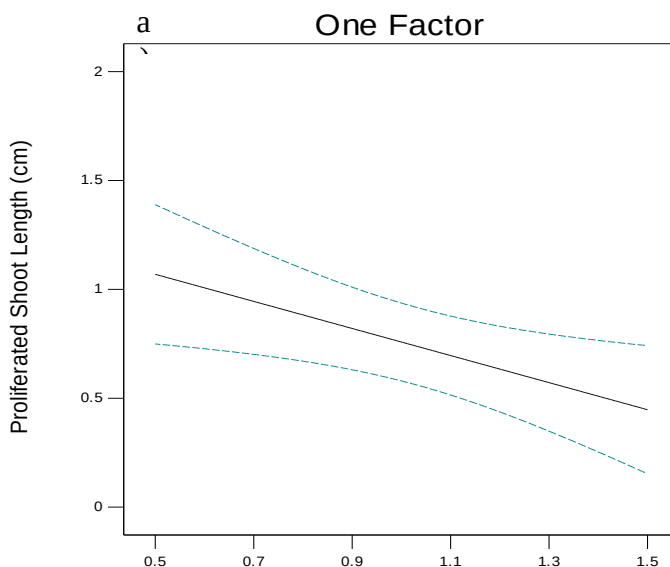
Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Proliferated Shoot Length (cm)
--- 95% CI Bands

X1 = C: NH4NO3

Actual Factors

A: Fe = 1

B: Micro = 1.5



C: NH4NO3

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Proliferated Shoot Length (cm)

● Design Points

1.96557

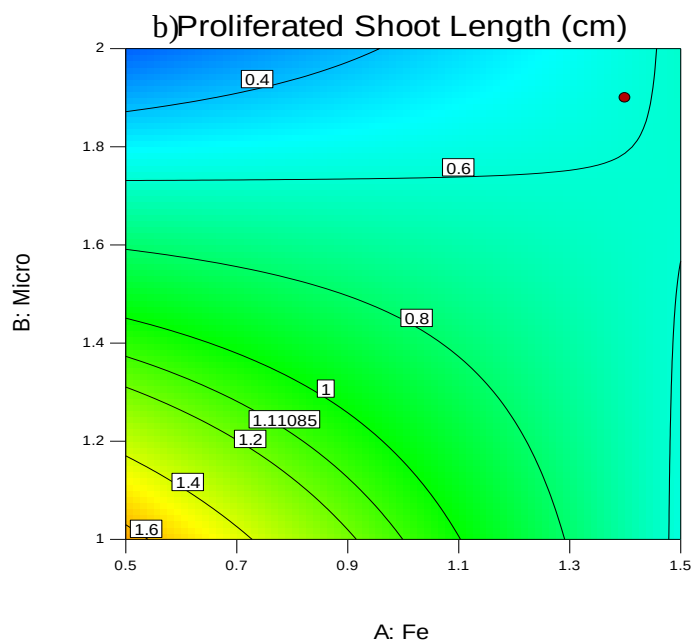
0.04

X1 = A: Fe

X2 = B: Micro

Actual Factor

C: NH4NO3 = 1



A: Fe

شکل ۳- طول شاخه‌های پرآوری شده گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر مقادیر NH_4NO_3 (a) و آهن $\times$ میکرو (b) در شرایط درون شیشه‌ای
Figure 3- Proliferated shoot length of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' affected by NH_4NO_3 (a) and Fe $\times$ Micro interaction effect (b) in *in vitro* condition

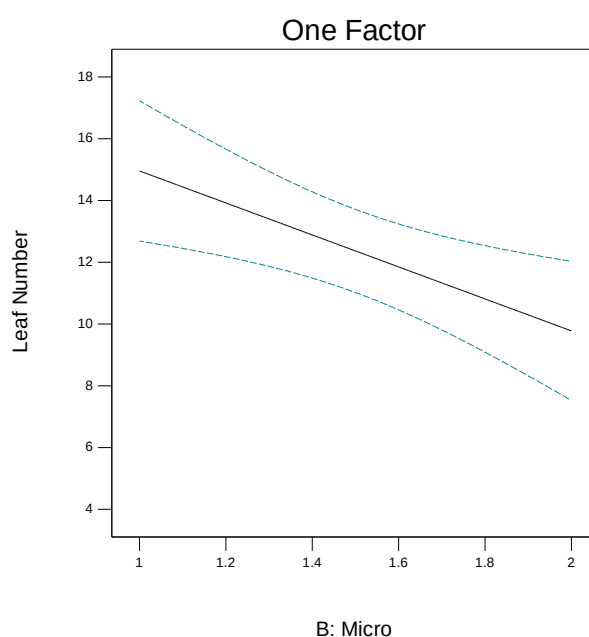
ایجاد سمیت می‌کند که نشانه عمومی سمیت عناصر کاهش رشد می‌باشد (۳۱). در تمام گیاهان عالی حدود ۲۰ پروتئین zinc finger شناسایی شده است که نقش مهمی را در نمو گیاه مانند آغازش برگ و شاخه‌های جانبی دارد (۴۲). به نظر می‌رسد غلظت عناصر میکرو در محیط کشت پایه MS غلظت بهینه برای رشد باشد چنانکه غلظت‌های پایین عناصر میکرو در شاخه‌های درون شیشه‌ای گلابی ارقام Hang Pa Li و Winter Nelis گره‌های بیشتری تولید کرد (۳۷).

تعداد برگ: تعداد برگ تولید شده در قالب مدل خطی ($p \leq 0.01$) تحت تاثیر مقادیر میکرو قرار گرفت (جدول ۲). رابطه مستقیم منفی بین تعداد برگ تولید شده و مقادیر میکرو ثبت شد. شاخه‌های رشد یافته در محیط کشت حاوی $1 \times$ مقادیر میکرو در محیط کشت پایه MS به میزان $1/5$ برابر برگ بیشتری نسبت به مقادیر $2 \times$ تولید کردند (شکل ۴). عناصر میکرو در مقادیر بسیار پایین برای گیاه ضروری بوده و در تمام فرآیندهای حیاتی گیاه مانند فتوسنتز و متابولیسم گیاه نقش دارند با این وجود غلظت‌های بیش از حد این عناصر در گیاه

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Leaf Number
---- 95% CI Bands

X1 = B: Micro

Actual Factors
A: Fe = 1
C: NH_4NO_3 = 1

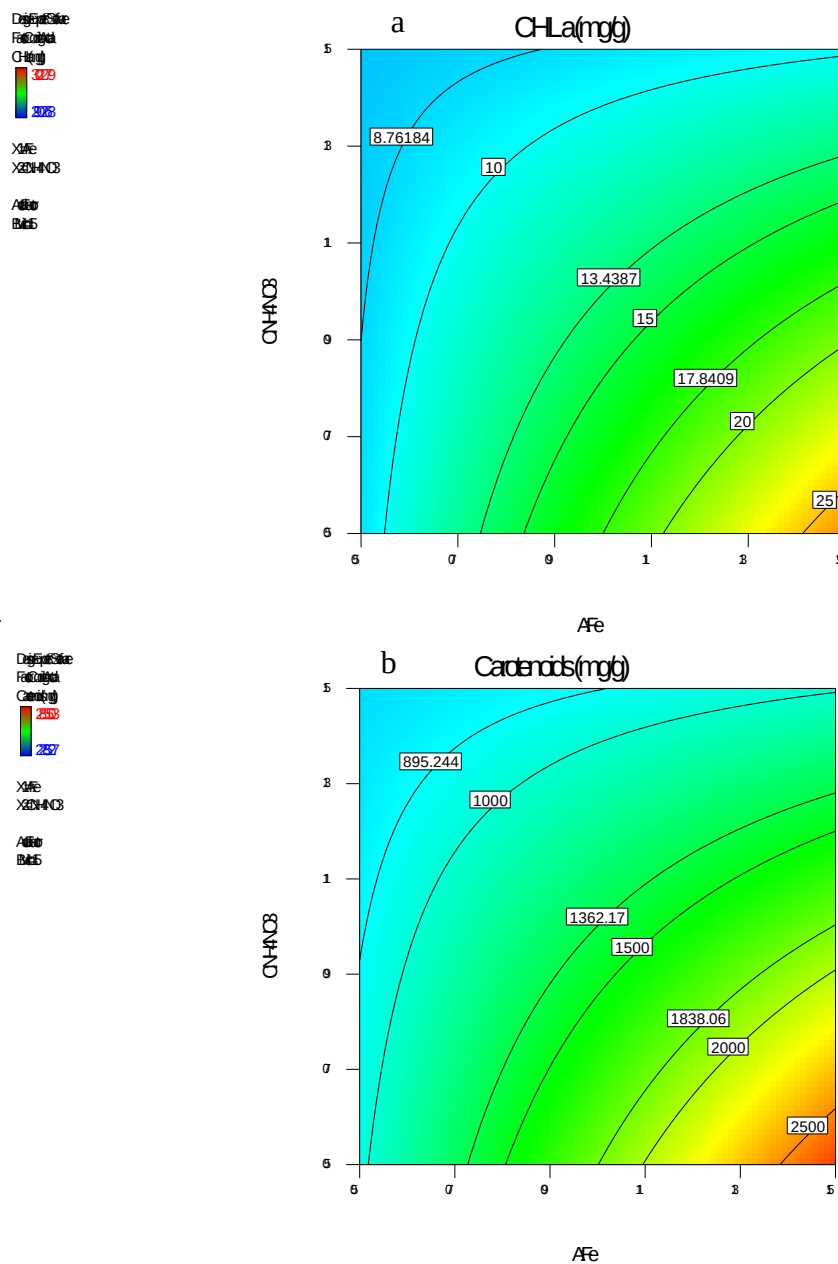


شکل ۴- تعداد برگ تولید شده در شاخه‌های گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر مقادیر مختلف میکرو در شرایط درون شیشه‌ای

Figure 4- The leaf number of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' shoots under different concentrations of Micro in *in vitro* condition

میزان کلروفیل موثر بودند (۳۷). کلروفیل a رنگدانه اصلی در فتوسنتز است و کارتنوئیدها نقش حیاتی در فتوسنتز و حفاظت نوری به عهده دارند (۳، ۹ و ۱۶). مراحل مختلفی از بیوسنتز کلروفیل شامل تبدیل کوپروپروپیرینوژن به پروتوپروپیرین IX (۱۷)، منیزیم-پروتوپروپیرین IX به پروتوکلروفیلید-مونومتیل استر (۴۱) و سنتز ALA (۲۲) وابسته به آهن است. گزارش شده است از یک طرف غلظت‌های بالای آمونیوم مقادیر کلروفیل را به شدت کاهش می‌دهد (۲۰ و ۳۹) و از طرف دیگر افزایش نیتروژن باعث کاهش جذب آهن می‌شود (۵) که می‌تواند تاثیرات اثر منفی NH_4NO_3 را بر میزان کلروفیل a توضیح دهد.

کلروفیل a و کارتنوئید برگ: محتوی کلروفیل a ($p \leq 0.05$) و کارتنوئید برگ در قالب مدل خطی تحت تاثیر مقادیر آهن و NH_4NO_3 قرار گرفتند بطوریکه برای هر دو صفت آهن دارای اثر مثبت و NH_4NO_3 دارای اثر منفی ($p \leq 0.05$) بودند (جدول ۲). افزایش آهن تا $1/5 \times$ برابر و کاهش NH_4NO_3 تا $0.5 \times$ برابر محیط کشت پایه MS باعث افزایش ۲ برابری در میزان کلروفیل a و کارتنوئید شد (شکل ۵، a و b). علاوه بر مروزها که میزان کلروفیل را در ژنوتیپ‌های گلابی تحت تاثیر قرار داد در رقم Winter Nelis فاکتور آهن و NH_4NO_3 در رقم Horner 51 فاکتور $\text{NH}_4\text{NO}_3 \times$ میکرو و در گونه *P. dimorphophylla* فاکتور میکرو $\times$ آهن بر



شکل ۵- میزان کلروفیل a (a) و کارتنوئید (b) در برگ گلابی رقم 'شکری' تحت تاثیر مقادیر مختلف آهن $\text{NH}_4\text{NO}_3 \times$ در شرایط درون شیشه‌ای
Figure 5- Chlorophyll and carotenoids of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' leaf under different concentrations of Fe (a) and $\text{Fe} \times \text{NH}_4\text{NO}_3$ (b) in *in vitro* condition, respectively.

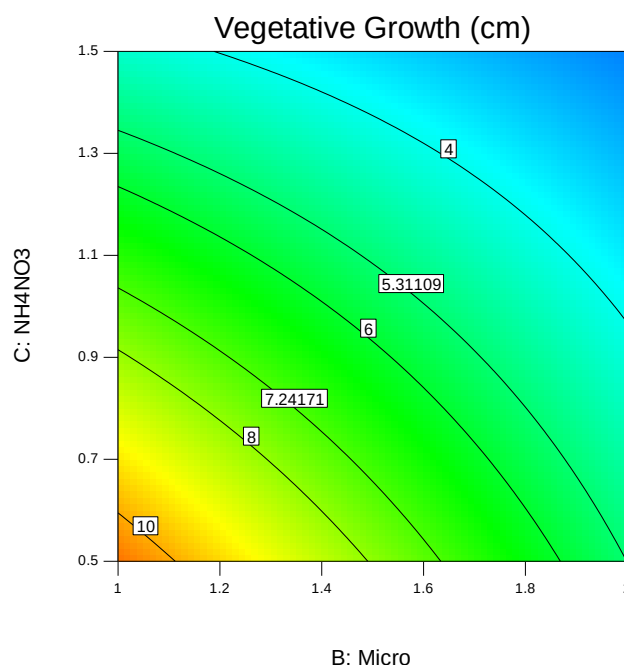
رشد رویشی: رشد رویشی در قالب مدل خطی ($p \leq 0.01$) بطور منفی تحت تاثیر مقادیر میکرو و NH_4NO_3 ($p \leq 0.01$) قرار گرفت با این تفاوت که اثر منفی NH_4NO_3 دو برابر بیشتر از اثر میکرو بود (جدول ۲). مقادیر $1 \times$ میکرو و $0.5 \times \text{NH}_4\text{NO}_3$ مقادیر محیط کشت

رشد رویشی: رشد رویشی در قالب مدل خطی ($p \leq 0.01$) بطور منفی تحت تاثیر مقادیر میکرو و NH_4NO_3 ($p \leq 0.01$) قرار گرفت با این تفاوت که اثر منفی NH_4NO_3 دو برابر بیشتر از اثر میکرو بود (جدول ۲). مقادیر $1 \times$ میکرو و $0.5 \times \text{NH}_4\text{NO}_3$ مقادیر محیط کشت

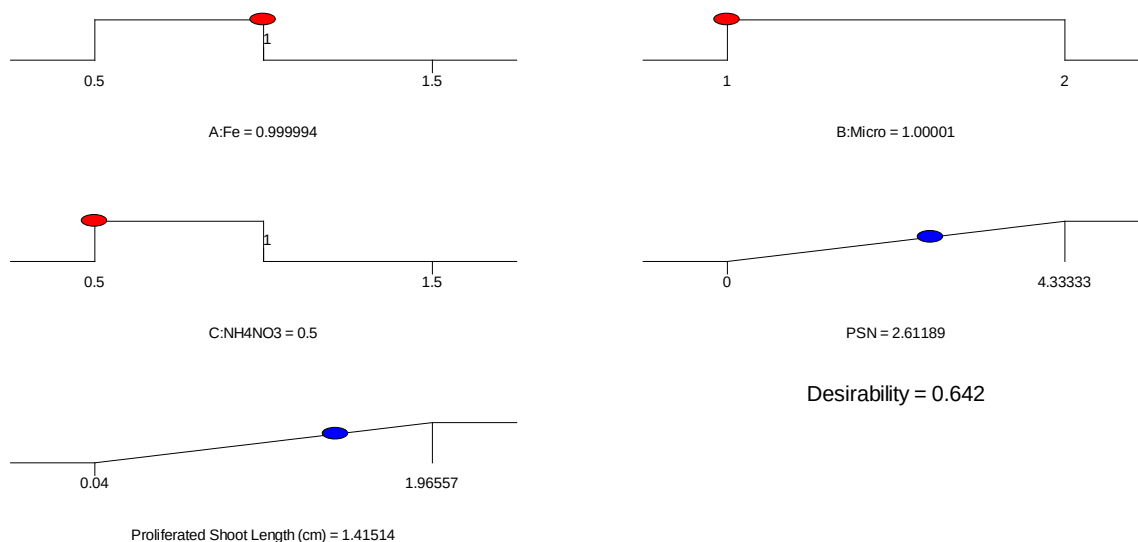
MS غلظت بهینه برای رشد گلایی رقم شکاری □ باشد چرا که احتمالاً غلظت‌های بالاتر بدلیل ایجاد سمیت از رشد ممانعت می‌کنند (۳۱).

عناصر میکرو نیز از طریق تاثیر بر طول شاخه رشد رویشی رشد رویشی را تحت تاثیر قرار داد. همانطور که برای پاسخ تعداد برگ ذکر گردید بنظر می‌رسد غلظت بهینه عناصر میکرو معادل با محیط کشت

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Vegetative Growth (cm)
11.8508
1.18267
X1 = B: Micro
X2 = C: NH₄NO₃
Actual Factor
A: Fe = 1



شکل ۶ - تغییرات رشد رویشی شاخه‌های گلایی رقم 'شکاری' تحت تاثیر مقادیر مختلف میکرو و NH₄NO₃ در شرایط درون شیشه‌ای
Figure 6- Vegetative growth variation of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' under different concentrations of Micro and NH₄NO₃ in *in vitro* condition



شکل ۷ - مقادیر بهینه پیش‌بینی شده برای سه فاکتور آهن، میکرو و NH₄NO₃ بوسیله نرم افزار Design Expert برای دو پاسخ تعداد شاخه پرآوری شده و طول شاخه پرآوری شده در شاخه‌های درون شیشه‌ای گلایی رقم 'شکاری'

Figure 7- Optimal values were predicted by Design Expert for three factors: Fe, Micro and NH₄NO₃ that influence two responses: Proliferated shoot number and Proliferated shoot length of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' shoots in *in vitro* condition

کشت) در شرایط درون شیشه‌ای بهره برده اند؛ نتایج این آزمایش با نتایج آن‌ها بر روی انواع ژنوتیپ گلابی موافقت داشت و امکان استفاده از نرم افزار Design Expert را با هدف بهینه‌سازی اجزای محیط کشت تایید می‌کند. نتایج این آزمایش تاثیرات مشخص مقادیر آهن، میکرو و NH_4NO_3 را بر مورفوزنیز شاخه‌های درون شیشه‌ای گلابی رقم 'شکری' نشان می‌دهد. NH_4NO_3 همانطور که برای اکثر گونه‌های گلابی گزارش شده است فاکتور موثر بر تولید شاخه بود در حالیکه فاکتورهای موثر بر طول شاخه عبارت از آهن، میکرو و مزوز بودند. عناصر میکرو در غلظت معادل محیط کشت MS برای گلابی رقم □ شکری □ بهینه بوده و در مقادیر بالاتر احتمالاً بدلیل بروز سمیت بر رشد اثر منفی دارد. آزمایشات تکمیلی به‌منظور بررسی نمک‌های ریزمغذی، مزوزها و سایر عناصر ماکرو و سپس بهینه‌سازی ترکیب تنظیم کننده‌های رشدی برای بهبود پاسخ شاخه‌های گلابی رقم 'شکری' پیشنهاد می‌شود.

بهینه‌سازی: نرم افزار Design expert می‌تواند برای پیش‌بینی مقادیر بهینه فاکتورهای موثر در محیط کشت مورد استفاده قرار گیرد. بهترین ترکیب بهینه محیط کشت پیش‌بینی شده توسط نرم افزار Design Expert بر اساس دو پاسخ بسیار مهم در پراوری شاخه (تعداد و طول شاخه پراوری شده: حداکثر) محیط کشت MS تغییر یافته به ترتیب حاوی مقادیر 0.09 ، 1 و 0.5 برابر مقادیر آهن، میکرو و NH_4NO_3 بود (شکل ۷). رید و همکاران (۳۷) نیز بیان کردند که محیط کشت بهینه برای ژنوتیپ‌های مختلف گلابی محیط کشت MS حاوی $1 \times$ یا $0.5 \times$ آهن و مقادیر افزایش یافته مزوزها بود در حالیکه مقدار بهینه نیتروژن برای هر گونه تفاوت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

همانطور که نیدز و همکاران (۲۷، ۲۸ و ۲۹) بطور موفق از نرم‌افزار آماری Design Expert جهت طراحی و تجزیه آزمایشات به منظور تعیین بهترین ترکیب از مواد غذایی (و یا سایر اجزای محیط

منابع

- Al Maarri K., Duron M., Arnaud Y., and Miginiaac E. 1986. Etude comparative de l'aptitude a la micropropagation, par culture de meristemes *in vitro*, du poiriers juveniles issus de semis de 'Passe Crassane'. C.R. Acad. Agric. Fr., 72:413-421.
- Bell R.L., and Reed B.M. 2002. *In vitro* tissue culture of pear: advances in techniques for micropropagation and germplasm preservation. Acta Horticulturae, 596:412-418.
- 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.*, 45:708-714
- Bennett W.F.1993. Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants. APS Press, Minneapolis, MN, 202 pp.
- Chenard, C.H., Kopsell, D.A., and Kopsell, D.E. 2005. Nitrogen Concentration Affects Nutrient and Carotenoid Accumulation in Parsley. *Journal of Plant Nutrition*, 28(2): 285-297.
- Chevreau E., and Skirvin R.M. 1992. Pear. In: Hammerschlag F.A., Litz R.E. (ed.): Biotechnology of perennial fruit crops. Biotechnology in Agriculture. CAB International, Wallingford, 8: 263-276.
- Dere S., Gunes T., and Sivaci R.1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid content of some algae species using different solvent. *Botany*, 22 (1): 13-17.
- Design-Expert. 2010. Stat-Ease, Inc., Minneapolis.
- Domonkos M., Kis Z., and Gombos B. 2013. Ughy Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Prog. Lipid Res.*, 52: 539-561.
- Engelsberger W.R., and Schulze W.X. 2012. Nitrate and ammonium lead to distinct global dynamic phosphorylation patterns when resupplied to nitrogen starved Arabidopsis seedlings. *Plant Journal*, 69: 978-995.
- Evens T.J., and Niedz R.P. 2008. ARS-Media: Ion Solution Calculator, U.S. Horticultural Research Laboratory, Ft. Pierce, FL 34945 USA
- Gago J., Martinez-Núñez L., Landin M., and Gallego P.P. 2010. Artificial neural networks as an alternative to the traditional statistical methodology in plant research. *Journal of Plant Physiology*, 167: 23-27.
- Gallego P.P., Gago J., and Landin M. 2011. Artificial neural networks Technology to model and predict plant biology process. p. 197-216. In K. Suzuki, Artificial Neural Networks-Methodological and Biomedical Applications, (Croatia: Intech Open Access Publisher).
- Greenway M.B., Phillips I.C., Lloyd M.N., Hubstenberger J.F., and Phillips G.C. 2012. A nutrient medium for diverse applications and tissue growth of plant species *in vitro*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 48:403-410
- Hermans C., Vuylsteke M., Coppens F., Cristescu S.M., Harren F.J., Inze D., and Verbruggen N. 2010. Systems

- analysis of the responses to long-term magnesium deficiency and restoration in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 187:132–144.
16. Hashimoto H., Uragami C., and Cogdell R.J. 2016. Carotenoids and photosynthesis Subcell. Biochem, 79: 111-139.
17. Hsu W., and Miller G.W. 1969. Copro-porphyrinogenase in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Biochem*, 1 (117): 215-220.
18. Ivanova M., and Van Staden J. 2009. Nitrogen source, concentration, and $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio influence shoot regeneration and hyperhydricity in tissue cultured *Aloepolyphylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 99: 167–174.
19. Karimpour S., Davarynejad G.H., Bagheri A., and Tehranifar A. 2013. *In Vitro* Establishment and Clonal Propagation of Sebr Pear Cultivar. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15: 1209-1217.
20. Li B.H., Li Q., Xiong L.M., Kronzucker H.J., Kramer U., and Shi W.M. 2012. Arabidopsis plastid AMOS1/EGY1 Integrates abscisic acid signaling to regulate global gene expression response to ammonium stress. *Plant Physiol*, 160: 2040-51.
21. Lloyd G., and McCown B. 1981. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *The International Plant Propagators' Societ*, 30:421-427.
22. Miller G.W., Pushnik J.C. and Welkie G. 1984. Iron chlorosis a worldwide problem, the relation of chlorophyll biosynthesis to iron. 1. *Plant Nutrition*, 7: 1-22.
23. Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15:473–497
24. Nakajima I., Ito A., Moriya S., Saito T., Moriguchi T., and Yamamoto T. 2012. Adventitious shoot regeneration in cotyledons from Japanese pear and related species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 48:396–402
25. Nedelcheva S. 1986. Effect of inorganic components of the nutrient medium on *in vitro* propagation of pears. *Genetics Selection Evolution*, 19:404-406.
26. Nezami Alanagh E., Garoosi GH-A., Hadad B., Maleki S., Landin M., and Gallego P.P. 2014. Design of tissue culture media for efficient *Prunus* rootstock micropropagation using artificial intelligence models. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 117:349 -359.
27. Niedz R.P., and Evens T.J. 2006. A solution to the problem of ion confounding in experimental biology. *Nature Methods*, 3:417.
28. Niedz R.P., and Evens T.J. 2007. Regulating plant tissue growth by mineral nutrition. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 43:370–381.
29. Niedz R.P., Hyndman S.E., and Evens T.J. 2007. Using a Gestalt to measure the quality of *in vitro* responses. *Scientia Horticulturae*, 112:349–359.
30. Niedz R.P., Hyndman S.E., Evens T.J., and Weathersbee A.A. 2014. Mineral nutrition and *in vitro* growth of *Gerbera hybrida* (Asteraceae). *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 50: 458.
31. Pandey N. 2018. Role of Plant Nutrients in Plant Growth and Physiology (Chapter 2). M. Hasanuzzaman et al. (eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*, 51-93.
32. Preece J. 1995. Can nutrient salts partially substitute for plant growth regulators?. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 1:26–37.
33. Quoirin M., and Lepoivre P. 1977. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus*. *Acta Horticulturae*, 78:437-442.
34. Ramage C.M., and Williams R.R. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 38:116–124.
35. Reed B.M., DeNoma J.S., Wada S., and Postman J.D. 2012. Micropropagation of pear (*Pyrus* sp). Chapter 1. p. 3–18. In: Lambardi M., Ozudogru E.A., Jain S.M. (eds) *Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants*. Humana, New York.
36. Reed B.M., Sarasan V., Kane M., Bunn E., and Pence V. 2011. Biodiversity conservation and conservation biotechnology tools. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 47:1–4
37. Reed B.M., Wada S., DeNoma J., and Niedz RP. 2013a. Improving *in vitro* mineral nutrition for diverse pear germplasm. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 49:343-355.
38. Reed B.M., Wada S., DeNoma J., and Niedz RP. 2013b. Mineral nutrition influences physiological responses of pear *in vitro*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 49:699-709.
39. Sanchez-Zabala J., Gonz_alez-Murua C., and Marino D. 2015. Mild ammonium stress increases chlorophyll content in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior*, 10 (3): 9915961-3.
40. Sathyanarayana B.N., and Blake J.1994. The effect of nitrogen sources and initial pH of the media with or without buffer on *in vitro* rooting of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam). P. 77-82. In P. J. Lumsden, J.R. Nicholas and W.J. Davies. *Physiology Growth and Development of Plants in Culture*. Dordrecht: Kluwer.
41. Spiller S.C., Castelfranco A., and Castelfranco P. 1982. Effects of iron and oxygen on chlorophyll biosynthesis. I. *In vivo* observations of iron and oxygen - deficient plants. *Plant Physiol*, 69: 107-111.

42. Takatsuji H. 1999. Zinc finger proteins: the classical zinc finger emerges in contemporary plant science. *Plant Mol Biol* 39:1073–1078.
43. Tang H, Luo Y., and Liu C. 2008. Plant regeneration from *in vitro* leaves of four commercial *Pyrus* species. *Plant, Soil and Environment*, 54 (4): 140–148.
44. Thakur A., and Kanwar J.S. 2008. Micropropagation of 'wild Pear' *Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai.I. explant establishment and shoot multiplication. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 36 (1): 103-108.
45. Wada S., Niedz R.P., and Reed B.M. 2013. Determining nitrate and ammonium requirements for optimal *in vitro* response of diverse pear species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 49:356–365.
46. Wada S., Maki Sh., Niedz R.P., and Reed B.M. 2015. Screening genetically diverse pear species for *in vitro* CaCl₂, MgSO₄ and KH₂PO₄ requirements. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37: 63.
47. Wada S., Niedz R.P., DeNoma J., and Reed B.M. 2013. Mesos components (CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄) are critical for improving pear micropropagation. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 49:356–365.



***In Vitro* Shoot Proliferation of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' in Different Medium Nutrition by Design Expert Software**

S. Karimpour¹- G. H. Davarynejad^{2*}- M. Zakiaghi³- M. R. Safarnejad⁴

Received: 24-02-2018

Accepted: 10-03-2019

Introduction: Micropropagation is important for both multiplication and preservation of a wide range of nursery plants, including many fruit crops. A number of studies exist on optimization of growth in *in vitro* condition for one or two cultivars, but often these results cannot be used for the other genotypes because individual cultivars may differ greatly in their requirements. Therefore, genotype-specific medium are usually empirically developed for many plants including pear. Pear cultivars and species are often recalcitrant to tissue culture manipulations and Murashige and Skoog (23) (MS) basal nutrient medium at full or half strength or with slight modifications is the most media were used. The QL, DKW, and WPM media are also used and they differ mostly in types or amounts of calcium and nitrogen in compared with MS. Developing growth media for specific and unique cultivars is complex and time-consuming. Currently, improved experimental design and using statistical softwares allow much more efficient approaches to be utilized for the improvement of micropropagation media and conditions. Improving of growth medium for *in vitro* propagation of plants depends on type and quantities of mineral nutrients and plant growth regulators as important ones. The existence of statistical softwares to manage effective factors is very needed to access an optimized growth medium for *in vitro* propagation of plants. Design Expert is used as auxiliary software to identify essential factors in *in vitro* culture. Since the *in vitro* proliferation parameters of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' need to optimize for growth better, we were designed and performed a multifactor surface response experiment by Design Expert software to following two goals. First, to find optimized amount of some elements in medium and second, to show the response surface method can be useful for improving *in vitro* culture.

Materials and Methods: One experiment was designed by Design Expert software and was performed to improve *in vitro* proliferated shoots of *Pyrus communis* cv. 'Shekari'. Shoots were grown in a modified MS medium (supplement with 1 mg l⁻¹ of N6-benzyladenine) were used for this experiment. The experiment was included 20 model points randomly based on three nutritional factors: NH₄NO₃ (0.5-1.5×), Fe (0.5-1.5×) and micro nutrients (1-2×) in different concentration of their MS amounts. Media enriched with sucrose (30 g l⁻¹) and agar (8 g l⁻¹) after pH adjustment at 5.7. Cultures were grown at 25°C under a 16-h photoperiod with 70-90 μM m⁻² s⁻¹ irradiance provided by a combination of cool- and warm-white fluorescent bulbs and were transferred to new medium every 3 weeks. Several responses were recorded after two months: Proliferated shoot number, proliferated shoot length (cm), total leaf number, leaf chlorophyll a (mg g⁻¹), leaf carotenoids (mg g⁻¹), and vegetative growth (cm). Responses for each point were the mean of 5 replicates. Experimental design, model evaluation, and analysis were done by Design-Expert® 8 (2010) software and the highest-order polynomial model that was significant for each response was used for ANOVA.

Results and Discussion: Factors statistically were significant for responses according to ANOVA in linear, 2FI and quadratic models. Reduced NH₄NO₃ (×0.5) and enhanced Fe (×1.5) induced the higher number of proliferated shoots up to 4.43 folds of control according a quadratic model. NH₄NO₃ and Fe×Micro had negative liner relationships with shoot length, while leaf number negatively was affected by micros. Fe and NH₄NO₃ were effective factors on leaf chlorophyll a and carotenoids contents. Increasing Fe (×1.5) and decreasing NH₄NO₃ (×0.5) led to 2 folds higher production of chlorophyll a and carotenoids. Vegetative growth of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' in a quadratic-order method (negatively controlled by NH₄NO₃ and micros) increased by high values of proliferated shoot number and shoot length induced by reduced NH₄NO₃ (×0.5). Optimized amount of

1 and 2- PhD Graduate and Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Islamic Republic of Iran

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

3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Islamic Republic of Iran

4- Associate Professor, Department of Plant viruses, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

three studied factors based on two important responses, maximum amount of proliferated shoot number and length, were 0.9, 1 and 0.5× for Fe, micro and NH_4NO_3 in MS medium, respectively.

Conclusions: Design Expert software and response surface method were used successfully for *in vitro* optimizing of *Pyrus communis* cv. 'Shekari' regenerated shoots. Fe, Micro and NH_4NO_3 , were the effective factors for shoot regeneration responses in linear, 2FI and quadratic models. The multifactor investigation in surface response design will enable us to predict an optimal medium for several effective factors and estimate suitable responses. Outputs of these types of experiments provide a suitable background to increase optimization accuracy for future experiments.

Keywords: *In vitro* propagation, Pear, Response surface method, Micro, Fe.



تأثیر تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و شاخساره بر بازیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* var. Infinity) در حضور بور

فهیمة درآباد^۱ - مریم حقیقی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳

چکیده

به منظور مقایسه اثر تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و قسمت هوایی بر بازیابی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی پژوهشی در آزمایشی در شرایط محیطی کنترل شده در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. این دو آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تکرار شامل دو تیمار غلظت‌های مختلف عنصر بور (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ بر حسب پی‌پی‌ام) و دو سطح دمایی بخش‌های هوایی (۱۰ درجه سانتی‌گراد دمای تنش سرمایی بخش هوایی و ریشه و ۲۲ درجه سانتی‌گراد دمای بهینه و شاهد) انجام شد. نتایج نشان داد بیشترین میزان فتوسنتز، میزان وزن خشک ریشه و بخش هوایی از تیمار مصرف ۰/۵ پی‌پی‌ام بور در حین تنش ناگهانی دمای پایین بر روی ریشه بود. بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان، فنول، پرولین ساقه و نشت الکترولیت نیز از تیمار مصرف ۱/۵ پی‌پی‌ام بور در حین تنش بر قسمت هوایی بدست آمد. به نظر می‌رسد تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و قسمت هوایی میزان بازیابی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه‌فرنگی را کاهش می‌دهد اما زمانی که دمای پایین بر قسمت هوایی تحمیل شد گیاه متحمل خسارات بسیار بیشتری شد که این خسارات خود را در دوره بازیابی نشان داد. همچنین مصرف ۰/۵ پی‌پی‌ام از عنصر بور در حین تنش سرمایی با ایجاد شرایط بهینه جهت رشد، باعث خنثی‌سازی نسبی اثرات تنش دمای پایین در ناحیه ریشه شده و گیاه را در وضعیت مطلوبی نگه داشت به نحوی که پس از دوره بازیابی، گیاه توانست خود را به شرایط قبل از تنش سرمایی نزدیک کند.

واژه‌های کلیدی: پرولین ساقه، فتوسنتز، نشت الکترولیت، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه

مقدمه

است زیرا تحت تنش سرما میزان کلروفیل در گیاهان گوجه‌فرنگی کاهش می‌یابد. در نتیجه کاهش فتوسنتز خالص و هدایت روزنه‌ای مخصوصاً در گیاهان دارای کمبود عناصر را در پی دارد. از سوی دیگر برخی از محققین گزارش دادند که گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش سرما با کاهش رشد و محصول روبرو خواهد بود (۲).

آسیب‌های ناشی از تنش سرما، در سطح سلولی و اندام‌ها بروز می‌کند که بازتاب آن در سطح گیاه مشاهده می‌شود (۳۱). تغییر رنگ، کلروز، کاهش عمومی رشد، تخریب بافت‌های سلولی، عدم جذب عناصر غذایی، کاهش فتوسنتز، عدم انتقال مواد فتوسنتزی از آثار اولیه تنش سرما است (۴۶). واکنش سلولی در مقابله با سرما، شامل از دست‌دادن فشار تورژسانس، واکوئولیزه شدن، برهم خوردن تعادل غشای سیتوپلاسمی، وزیکوله شدن، کاهش جریان سیتوپلاسمی و اختلال کلی در اندامک‌ها می‌باشد. حساسیت یا پایداری گیاه در برابر سرما بسته به نوع گیاه، رقم، مرفولوژی بافت و سایر خصوصیات سلولی و همچنین شرایط وقوع سرما از نظر مدت، زمان، شدت سرما متفاوت است. ضمن اینکه به نظر می‌رسد اندام‌های مختلف گیاه نیز از نظر تحمل به سرما درجه‌های متفاوتی داشته باشند (۳۱). در صورتی

امروزه کشت و کار سبزیجات در مناطق مختلف دنیا رواج دارد که این گیاهان در مناطقی به جز خاستگاه اصلی آن‌ها کشت و کار شده و لازم شد که به شرایط جدید سازگار شوند. سازگاری به دمای پایین نیازمند سازگاری به شرایط نوری پایین است زیرا معمولاً این دو عامل باهم همراه هستند (۱۶). گیاهان برای رشد بهینه به محدوده دمایی خاصی احتیاج دارند و خارج شدن از این محدوده بعنوان یک تنش محسوب می‌شود (۴۶). بیشتر گیاهان مخصوصاً آنهایی که بومی مناطق گرم هستند، وقتی در معرض دمای پایین ولی بالای دمای یخ‌زدگی قرار می‌گیرند، علائم آسیب از خود نشان می‌دهند (۲۴). گزارش شده است که کاهش تشکیل میوه در تنش دمایی در گیاه گوجه‌فرنگی به دلیل کاهش ارسال مواد فتوسنتزی به جوانه گل

۱ و ۲ - دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(Email: mhaghighi@cc.iut.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.68996

(* - نویسنده مسئول)

به طور کلی توجه به مناسب بودن دمای قسمت هوایی بیش از ریشه مورد بررسی و توجه قرار گرفته است و اگرچه دمای ریشه در رشد گیاه بسیار تاثیرگذار است اما مورد توجه کمتری بوده است و تا کنون بررسی و ارزیابی از مقایسه تنش سرمایی وارده بر بخش هوایی و ریشه و توانایی گیاه در بازیابی مجدد صورت نگرفته است از طرفی عنصر بر توانایی کاهش اثرات منفی سرما بر گیاه را دارد لذا هدف از این تحقیق بررسی اثر دمای پایین ریشه و بخش هوایی بر توانایی بازیابی رشد و فعالیتهای فیزیولوژیک گیاه در حضور و عدم حضور بر می باشد می باشد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی و نحوه اعمال تیمارها:

این پژوهش در آزمایشی جداگانه در شرایط محیطی کنترل شده در گلخانه‌ی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان (عرض جغرافیایی ۱۸°۲۳' شمالی، عرض جغرافیایی ۴°۵۳' شرقی) انجام شد. ابتدا بذره‌های گوجه فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum* رقم Infinity در بستر پیت و پرلایت در ظروف موردنظر کاشته شد و پس از ۴ هفته به سیستم هیدروپونیک اصلی که حاوی محلول غذایی جانسون (جدول ۱) با غلظت‌های بور تعریف شده بود منتقل گردیده و سپس به صورت ۲ آزمایش مجزا اجرا گردید.

این پژوهش به صورت آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تکرار شامل دو تیمار غلظت‌های مختلف عنصر بور (۰، ۱/۵، ۱ و ۱/۵ بر حسب پی‌پی‌ام) و دو سطح دمایی بخش‌های هوایی (۱۰ درجه سانتی‌گراد دمای تنش سرمایی بخش هوایی و ۱۱ دمای تنش ریشه و ۲۲ درجه سانتی‌گراد دمای بهینه و شاهد) انجام شد. ابتدا گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی به مدت ۷ روز در غلظت‌های مختلف بور نگهداری شده سپس جهت تامین دمای پایین قسمت هوایی به انکوباتور و جهت تامین دمای پایین ریشه به درون حمام آب سرد تحت تنش دمای پایین منتقل شدند. پس از اعمال تیمارها به مدت ۴۸ ساعت، گیاهان جهت بازیابی به مدت ۹ روز در شرایط دمای بهینه به گلخانه منتقل شدند و سپس شاخص‌های مورد نظر اندازه‌گیری شد.

فاکتورهای اندازه‌گیری شده:

شاخص‌های مورد نظر شامل میزان فتوسنتز، تنفس، میزان CO_2 زیر روزنه‌ای و هدایت روزنه توسط دستگاه اندازه‌گیری فتوسنتز (مدل LCA₄ Portable, photosynthesis system ساخت کشور انگلستان) و میزان فلورسنس کلروفیل توسط دستگاه فلورومتر (مدل OS-30 ساخت کشور انگلستان) و شاخص کلروفیل توسط دستگاه

که دمای قسمت هوایی مطلوب باشد دمای پایین ناحیه ریشه یکی از عوامل محدود کننده سیستم ریشه ای و رشد و نمو گیاه می تواند باشد. عمق نفوذ ریشه ها در خاک در اثر دمای پایین نسبت به دماهای بالاتر بیش تر محدود می شود و همچنین بیش ترین مقدار وزن تر ریشه در لایه های بالای خاک می توان مشاهده نمود (۱). ساخت ترکیبات آنتی اکسیدانی و فنولی نیز در اثر تنش های دمایی تحریک می شود. به عنوان مثال ساخت ترکیبات آنتی اکسیدانی تحت تاثیر دمای پایین با افزایش فعالیت فنیل آلانین مورد نیاز انجام می گیرد (۱۸). ریشه ها یکی از مهمترین نقاط مصرف کربوهیدرات ها هستند و با فعالیت خود می توانند ساخت کربوهیدرات در بخش های هوایی را تحت تاثیر قرار دهند (۲۲). در بسیاری از گونه های دیده شده است که دمای ریشه در میزان رشد شاخساره موثر است و البته دمای بهینه برای رشد هر یک از این گونه ها با یکدیگر تفاوت دارد (۷). دمای ریشه ها عمدتاً از دمای بخش های هوایی در طول دوره رشد پایین تر بوده و همچنین تغییرات دمای ریشه نسبت به بخش های هوایی پایین تر است (۵۲). بررسی نتایج مشخص نمود که در بین سطوح عنصر بور، سطح ۰/۵ پی‌پی‌ام بهترین نتیجه را پس از دوره بازیابی در بین دیگر سطوح به دست آورد. به نظر می‌رسد از آنجایی که مرز بین کمبود یا سمیت عنصر بور بسیار باریک و حساس می‌باشد (۴۲) و هم در زمان کمبود و هم در زمان سمیت این ماده، گیاه متحمل تنشی مضاعف بر تنش سرمایی می‌گردد، گیاه دچار خسران بیشتری هم در سطوح بالاتر و هم در سطوح پایین تر از میزان ۰/۵ پی‌پی‌ام شده است. مصرف میزان متعادل از عنصر بور در حین تنش سرما باعث می شود گیاه در مقابل تنش دمای پایین مقاومت مطلوبی از خود نشان دهد. احتمالاً مصرف میزان متعادل عنصر بور به طریق خنثی سازی اثرات منفی تنش سرما و مکانیزم هایی مثل حفظ ساختار غشا (۳۳)، بهبود و افزایش رشد ریشه (۲۱)، افزایش سنتز پروتئین‌های مورد نیاز گیاه (۱۹)، تنظیم حرکات روزنه‌ای و بهبود هدایت روزنه‌ای (۵۰)، افزایش تقسیم سلولی (۲۰)، افزایش متابولیسم نیتروژن و تولید کلروفیل و پیامد آن با افزایش فتوسنتز و تولید ماده خشک (۱۷)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم نسبت کلسیم به پتاسیم، بهینه کردن انتقال کلسیم در گیاه، تنظیم میزان آب و هدایت آن در سلول و افزایش رطوبت و محتوی نسبی آب برگ، نقل و انتقال مواد محلول (۳۲) و افزایش کارایی مصرف آب (۳۵) موجب ایجاد مقاومت نسبی در برابر تنش دمای پایین شده و آثار تنش را تعدیل ساخته است به نحوی که در گیاه رادیکال آزاد اکسیژنی کمتری تولید شده و گیاه نیاز به میزان کمتری از فنول ها و پرولین ها داشته است. اما در سطوح بالاتر از عنصر بور به دلیل تحمیل اثر سمیت بور و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن اضافی (۳۹)، احتمالاً گیاه متحمل خسارات شدیدتری مضاف بر خسارت سرما شده است.

هدایت روزنه = میزان فتوستز / میزان کربن دی‌اکسید زیر روزنه
کارایی مصرف آب = میزان فتوستز / میزان هدایت زیر روزنه ای

کلروفیل سنج (مدل CL-01 ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد. میزان هدایت روزنه‌ای و کارایی مصرف آب از طریق فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

جدول ۱- ترکیبات عناصر غذایی در محلول غذایی جانسون

Table 1- Mineral compounds in Johnson's nutrient solution

ترکیب Compound	وزن مولکولی M.W	غلظت استوک Stock conc. (M)	غلظت استوک Stock conc. (g l ⁻¹)	میلی‌لیتر استوک در لیتر محلول نهایی ml stock per liter final sol.	عنصر Element	غلظت نهایی Final conc. ppm
نیتрат پتاسیم KNO ₃	101.10	1.0	101.10	6.0	N	224
نیترات کلسیم ۴ آبه Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236.16	1.0	236.16	4.0	K	235
آمونیم‌دی‌هیدروژن فسفات NH ₄ H ₂ PO ₄	115.08	1.0	115.08	2.0	Ca	160
سولفات منیزیم ۷ آبه MgSO ₄ .7H ₂ O	246.49	1.0	246.49	1.0	P	62
		(mM)			S	32
کلرید پتاسیم KCl	74.55	50	3.72	1.0	Mg	24
اسیدبوریک H ₃ BO ₃	61.84	25	1.54	1.0	Cl	1.77
سولفات منگنز تک آبه MnSO ₄ .H ₂ O	169.01	2.0	0.33	1.0	B	0.27
سولفات روی ۷ آبه ZnSO ₄ .7H ₂ O	287.55	2.0	0.57	1.0	Mn	0.11
سولفات مس ۵ آبه CuSO ₄ .5H ₂ O	249.71	0.5	0.12	1.0	Zn	0.13
اسید مولیبدات H ₂ MoO ₄	161.97	0.5	0.081	1.0	Cu	0.03
کلات آهن Fe-EDTA	346.08	50	21.53	1.0	Mo	0.05
					Fe	2.80

میزان محتوی آب نسبی برگ = (وزن خشک گیاه - وزن تر گیاه) / وزن تر گیاه

سنجش غلظت پروتئین محلول با استفاده از روش بردفورد (۱۰) انجام شد. اندازه‌گیری نشت یونی به روش زائو و همکاران (۵۸) انجام شد. پتانسیل آب برگ توسط دستگاه بمب فشار توسط اندامی که ۶ ثانیه قبل از گیاه جدا شده صورت گرفت. به منظور تعیین وزن خشک گیاه، نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون (دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و سپس با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری‌ها صورت گرفت. جهت سنجش میزان نشاسته، از روش شیلیگلا استفاده شد (۴۷) و در نهایت تجزیه و تحلیل نتایج توسط نرم افزار statistix8 و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

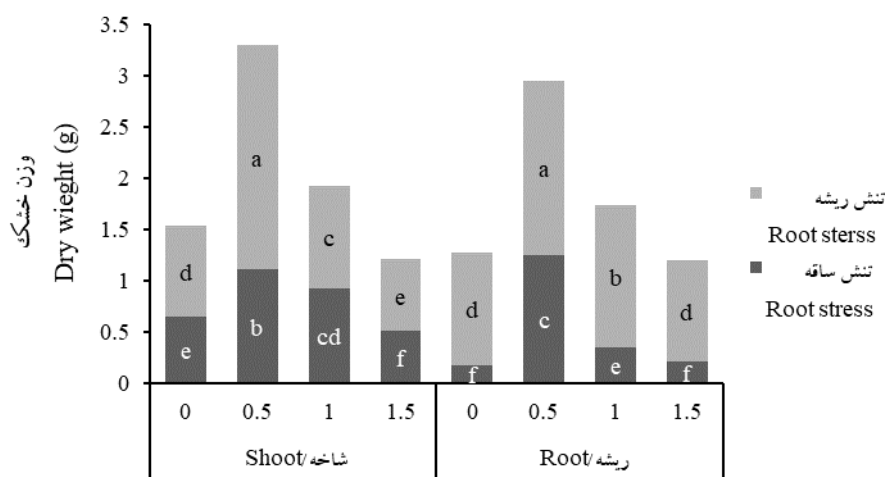
اندازه‌گیری پرولین به روش بیتس و همکاران (۶) و قرائت در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-600A) انجام گرفت. اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان به شیوه‌ی DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-600A ساخت کشور انگلستان) صورت گرفت و توسط فرمول زیر محاسبه شد (۵۷).

درصد ممانعت کترلی = (جذب کترلی - جذب نمونه) / درصد ممانعت کترلی
برای اندازه‌گیری فنول مترشحه از ریشه و عصاره برگ به شیوه فولین سیو کالتو ۵ با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-600A ساخت کشور انگلستان) قرائت شد (۴۹). میزان محتوی آب نسبی برگ توسط روش ریچی و همکاران (۴۳) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

نتایج

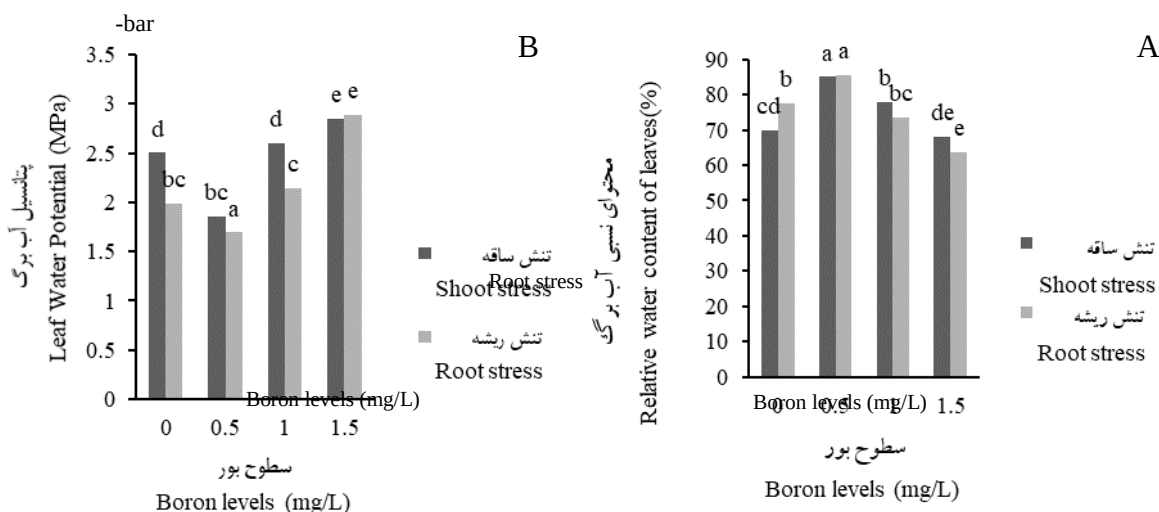
بیشترین میزان در ۰/۵ پی پی ام بور و کمترین در شاهد و ۱/۵ پی پی ام بور بود. درصد کاهش وزن خشک ریشه و ساقه تحت تنش تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشت (شکل ۱).

میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۰/۵ پی پی ام بور در تنش ریشه و ساقه بیشترین میزان و در شاهد و ۱/۵ پی پی ام بور حداقل میزان را داشت. وزن خشک ریشه نیز روند مشابهی داشت بطوریکه



شکل ۱- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه گوجه فرنگی رقم Infinity

Figure 1- Effect of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root or shoot on shoot and root dry weight of tomato cv. Infinity

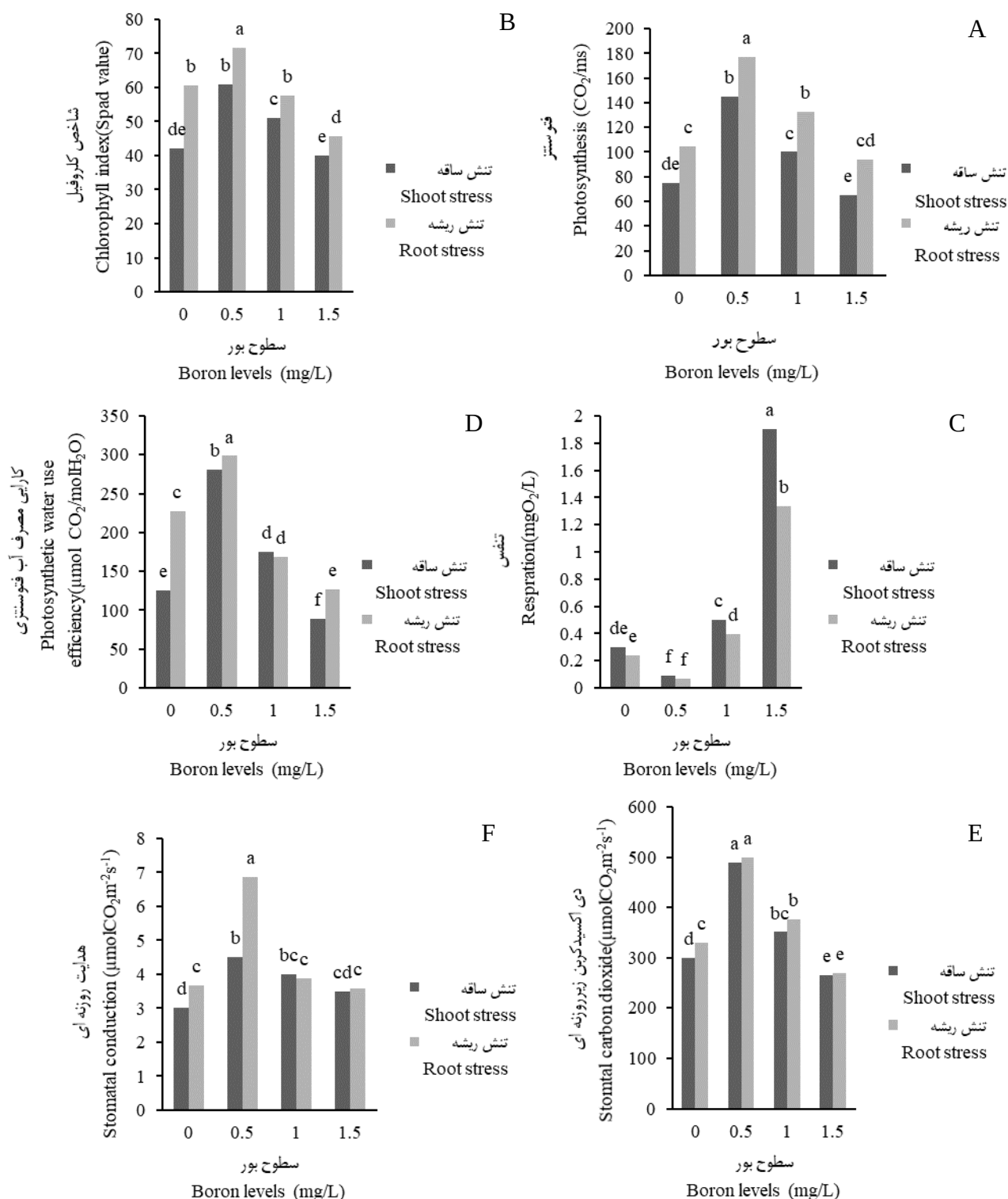


شکل ۲- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر محتوای نسبی آب برگ (A) و پتانسیل آب برگ (B) گوجه-فرنگی رقم Infinity

Figure 2- The effect of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root or shoot on the relative water content (A) and water potential (B) of tomato leaf cv. Infinity

و ۱/۵ پی پی ام بور منفی تر بود (شکل ۲-B).

محتوای نسبی آب برگ در غلظت ۰/۵ پی پی ام بور در هر دو تنش ساقه و ریشه بیشترین مقدار را داشت (شکل ۲-A). میزان پتانسیل آب برگ در تیمار تنش ریشه و ۰/۵ پی پی ام و در تیمار شاهد

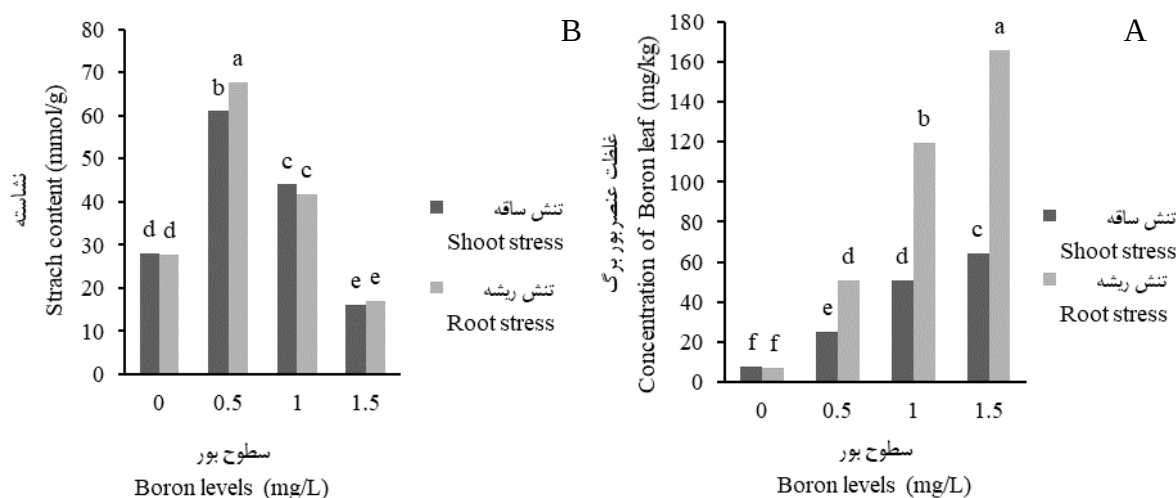


شکل ۳- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر شاخص کلروفیل (A)، فتوسنتز (B)، تنفس (C)، کارایی مصرف آب فتوسنتزی (D)، دی اکسید کربن زیر روزنه‌ای (E)، هدایت روزنه‌ای (F) گوجه‌فرنگی رقم Infinity

Figure 3- The effects of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root and shoot on chlorophyll index (A), photosynthesis (B), respiration (C), photosynthetic water use efficiency (D), stomatal carbon dioxide (E) and stomatal conduction (F) of tomato leaf cv. Infinity

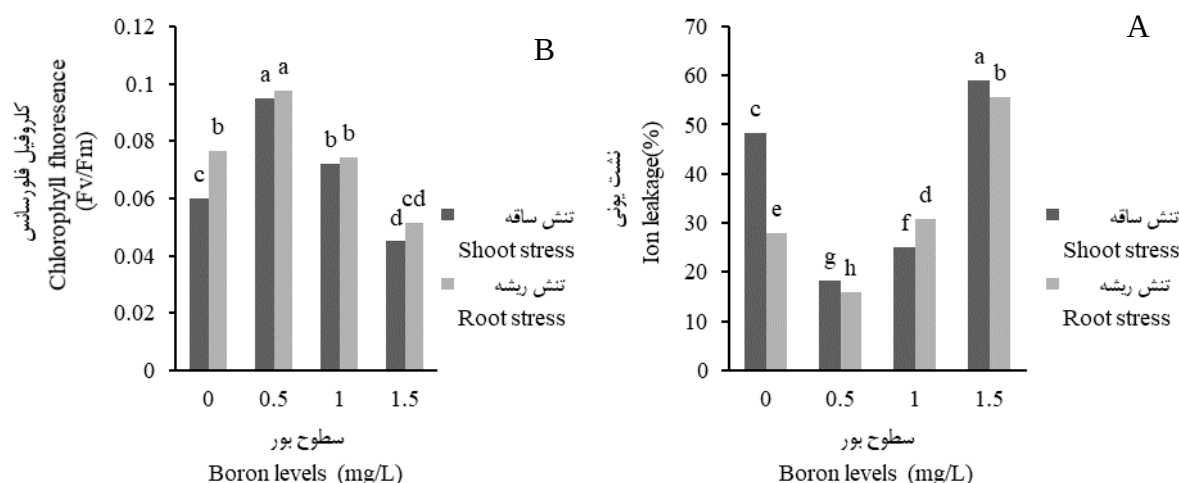
ریشه کمتر از ساقه بود (شکل ۳- C). کارایی مصرف آب فتوسنتزی در تیمار ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور در تنش ریشه و پس از آن ساقه بیشترین و در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور در هر دو تنش کمترین میزان را داشت (شکل ۳- D). بطور مشابه دی اکسیدکربن زیر روزه‌ای و هدایت روزه‌ای در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور و تنش ساقه و سپس ریشه بیشترین میزان و در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور بود و شاهد کمترین میزان را داشت (شکل ۳- E و F).

بیشترین میزان کلروفیل و فتوسنتز در تنش ریشه و بور ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور و در تنش ساقه نیز در همین تیمار بود. به طور کلی تنش سرمایی ساقه باعث کاهش بیشتری در میزان کلروفیل و فتوسنتز شد (شکل ۳- A و B). بیشترین میزان تنفس در تیمار ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور و تنش سرمایی ساقه و پس از آن ریشه است کمترین میزان تنفس در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور در هر دو تنش دیده شد. میزان تنفس در کلیه سطوح بور در تنش سرمایی



شکل ۴- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر میزان نشاسته (A) و غلظت عنصر بور (B) برگ گوجه‌فرنگی رقم Infinity

Figure 4- Effect of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root and shoot on starch content (a) and boron concentration (b) of tomato leaf cv. Infinity

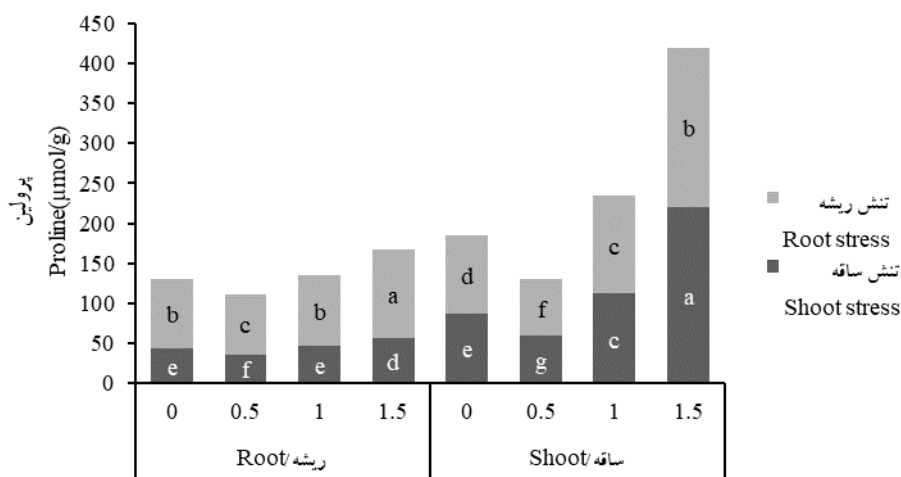


شکل ۵- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر کلروفیل فلورسانس (A) و نشت یونی (B) گوجه‌فرنگی رقم Infinity

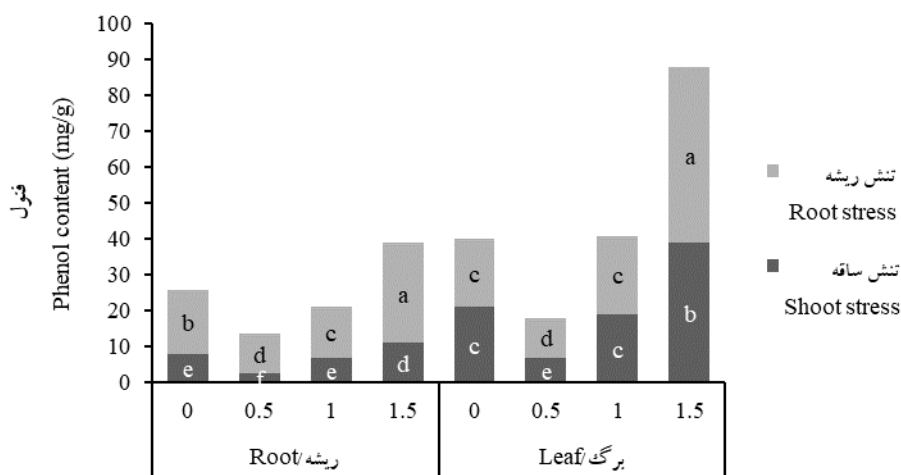
Figure 5- The effect of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root and shoot on chlorophyll fluorescence (A) and ionic leakage (B) of tomato leaf cv. Infinity

از آن ریشه بیشترین میزان را داشت (شکل ۵-B).
میزان پرولین ریشه در تنش سرمایی ریشه بیشترین و در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور بیشترین و در تنش سرمایی ساقه در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور کمترین میزان را داشت. با تنش سرمایی به ساقه میزان پرولین ساقه بیشترین افزایش و پس از آن در ریشه همان گیاهان در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور افزایش چشمگیری داشت. کمترین میزان پرولین ساقه در تنش سرمایی ریشه و ساقه بود (شکل ۶). به طور مشابه میزان فنول برگ نیز روند کاملاً مشابهی با پرولین ساقه در هر دو تنش داشت (شکل ۷).

میزان نشاسته در ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور و تنش ریشه و سپس ساقه بیشترین و در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور در هر دو تنش کمترین میزان را داشت (شکل ۴-A). غلظت عنصر بور در تنش ریشه در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور و سپس در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر بور بیشترین میزان را داشت (شکل ۴-B).
فلورسانس کلروفیل در ۰/۵ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور و شاهد مترین میزان را داشت (شکل ۵-A). نشت یونی در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور در هر دو تنش ریشه و ساقه کمترین میزان را داشت. نشت یونی در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور و شاهد در ساقه و پس



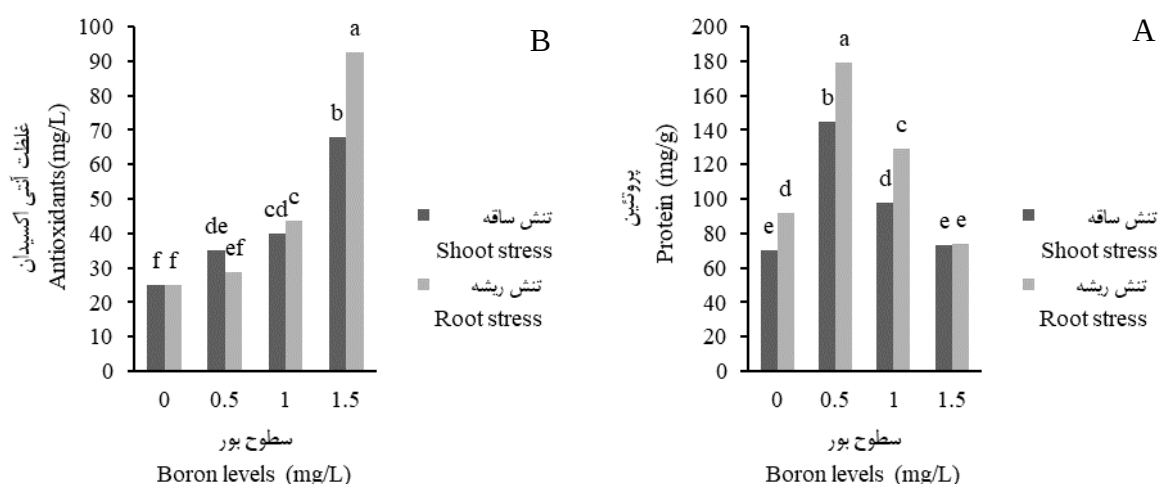
شکل ۶- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر میزان پرولین ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی رقم Infinity
Figure 6- Effect of different concentrations of boron × sudden low temperature of stress root and shoot on stem and root proline content of tomato cv. Infinity



شکل ۷- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر میزان فنول برگ و ریشه گوجه‌فرنگی رقم Infinity
Figure 7- The effect of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root and shoot on the amount of leaf and root phenol of tomato cv. Infinity

۸- A). میزان پروتئین برگ در تنش ساقه و سپس ریشه در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بور بیشترین و در ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور و شاهد در هر دو تنش کمترین میزان را داشت (شکل ۸-B).

غلظت آنتی اکسیدان در تنش سرمایی ریشه بیشترین و سپس در تنش ساقه در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر بور افزایش یافت و کمترین میزان آنتی اکسیدان در هر دو تنش در شاهد دیده شد (شکل



شکل ۸- اثر متقابل سطوح مختلف بور × تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و یا ساقه بر غلظت آنتی اکسیدان برگ (A) و پروتئین برگ (B) گوجه فرنگی رقم Infinity

Figure 8- The effects of different concentrations of boron × sudden low temperature stress of root and shoot the concentration on (B) of antioxidants (A) and leaf protein of tomato cv. Infinity

سبب کاهش توان دستگاه فتوسنتزی در تولید انرژی، اسمیلایون CO₂ در چرخه تاریکی فتوسنتز گردیده و باعث کاهش تولید کربوهیدرات می شود که کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به دنبال دارد. صدمه به ریشه در اثر دمای کم سبب کاهش جذب آب و مواد معدنی و در نتیجه اختلال در رشد گیاه می شود. کاهش رشد ریشه و به دنبال آن اختلال در انتقال مواد، سبب ظهور اثرهای ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی می شود. سنتز برخی از هورمون های گیاهی از جمله سیتوکینین و بسیاری از اسیدهای آمینه در ریشه گیاه، در اثر سرما دچار اختلال می شود که به کاهش رشد شاخساره گیاه می انجامد. همچنین سرما از طریق تأثیر بر رشد گرانشی ریشه، سبب محدودیت رشد آن می شود. این پاسخ گرانشی به طور ویژه ای با مقادیر اکسین ریشه وابسته است. این اختلاف موجب محدود شدن رشد ساقه در نتیجه کاهش سنتز هورمون ها می شود و ضعیف شدن گیاه را در پی دارد (۵۶). مصرف متعادل عنصر بور باعث افزایش محتوای کلروفیل و شدت فتوسنتز در برگ ها، افزایش تجمع ماده خشک در گیاه، بهبود انتقال مواد فتوسنتزی می شود. بنابراین می تواند باعث افزایش معنی داری در میزان ماده خشک گردد (۳۶). اثر مستقیم بور بر روی رشد سلولی و تمایز در مریستم ها باعث افزایش رشد

بحث

اثر متقابل سطوح مختلف بور و تنش سرمایی بر رشد گیاه

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به ترتیب ۱۱۴ و ۱۳۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به ترتیب به میزان ۴۸ و ۱۶۳ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. بررسی اثرات متقابل نیز نشان داد تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان وزن خشک اندام هوایی و ریشه را به ترتیب تا ۹۶ و ۵۵ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. مهمترین واکنش گیاهان حساس به سرمازدگی، افزایش سریع بازداری فتوسنتز است که می تواند منجر به خسارت نوری و یا اختلال در فعالیت فتوسنتز II شود که با کاهش متابولیسم کربن همراه است. آلن و همکاران در سال (۲) در آزمایشی بر روی گیاهان مناطق گرمسیری گزارش کردند که در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش سرما با کاهش رشد همراه بود. محققان گزارش کردند فتوسنتز گیاهان پس از مدت کوتاهی بین چند ساعت تا چند روز تحت تأثیر دمای پایین قرار می گیرد بطوری که رشد گیاه کاهش یافت (۳۸). تأثیرات منفی که تنش سرما بر کلروپلاست و فتوسنتز دارد

قرار می‌گیرند، نشانه‌های تنش آبی شامل پتانسیل پایین آب در آن دیده می‌شود (۴۰). با مواجه شدن ریشه و اندام هوایی نهال گیاهان با تنش سرما، گیاه دچار تنش آبی می‌شود که به وسیله کاهش هدایت هیدرولیکی ریشه آغاز و با کاهش شدید در پتانسیل آب ادامه می‌یابد (۲۶). رشد و نمو گیاهان بستگی به سرعت تولید سلول‌های جدید و سرعت بزرگ شدن آنها دارد. برای انجام این دو فرایند سلول‌ها باید در شرایط آماس مناسبی قرار داشته باشند. گیاهانی که قادرند در شرایط تنش خشکی فشار آماس سلول‌های خود را حفظ نمایند، می‌توانند به رشد طبیعی خود ادامه دهند. از طرفی دیگر پتانسیل فشار توسط میزان آب نسبی و تنظیم اسمزی سلول‌ها مشخص می‌شود. به عبارت دیگر گیاهانی که پتانسیل اسمزی خود را منفی نگه داشته و همزمان بتوانند آب بیشتری را در بافتهای خود حفظ کنند قادر به حفظ فشار آماس خواهند بود. مصرف متعادل بور با اثر مثبتی که بر کارایی فسفر دارد باعث استحکام دیواره سلولی و مانع از دست رفتن آب برگ شد. هرچند تنش سرما موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد اما مصرف بور با توجه به نقش آن در افزایش کارایی مصرف آب و فسفر و نیتروژن و نقش آن در فرآیند واکنش‌های هرمونی مانع از کاهش چشمگیر محتوای نسبی آب گردید.

صرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان غلظت کلروفیل و نرخ فتوسنتز را به ترتیب ۲۹ و ۸۰ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان غلظت کلروفیل و نرخ فتوسنتز را به ترتیب ۳۰ و ۳۱ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. اثرات متقابل برای سرعت فتوسنتز معنی دار نبود اما تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان غلظت کلروفیل را ۱۸ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. تنش دمای پایین با افزایش تولید رادیکال فعال اکسیژن و تأثیر گذاری بر غشا تیلکوئید باعث تخریب کلروفیل، رنگ سبز و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌شود. کاهش مقدار کلروفیل در شرایط تنش سرمایی به کاهش در سنتز کلروفیل یا تخریب آن توسط آنزیم کلروفیل‌لاز و کاهش فتوسنتز در اثر سرما به اختلال در تولید کلروفیل و از بین رفتن ساختار کلروپلاست‌ها نسبت داده شده است (۱۳). به نظر می‌رسد مصرف متعادل از عنصر بور با افزایش کارایی نیتروژن موجب افزایش تولید کلروفیل شده و همچنین از طرفی نقش بور در کنترل حرکات روزنه ای از طریق تنظیم میزان فسفر و پتاسیم موجب افزایش سرعت فتوسنتز می‌گردد. همچنین بر اساس نتایج به نظر می‌رسد احتمالاً تحت کمبود بور از کارایی نیتروژن کاسته شد و باعث کاهش کلروفیل شده و در دراز مدت با دهیدراسیون بافت‌ها منجر به افزایش فرایند اکسیداتیو شده و باعث زوال ساختار کلروپلاست و کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود. کاهش مقدار کلروفیل تحت تأثیر کمبود بور میتواند بدلیل اثر تخریبی رادیکال‌های آزاد اکسیژن که در غیاب بور انباشته می‌شوند باشد (۱۱). پس از رفع

می‌گردد (۳۷). بور یک عنصر کم مصرف ضروری محسوب می‌شود اما کمبود آن در گیاهان منجر به جلوگیری از توسعه ریشه از طریق محدود کردن تقسیم سلولی در نواحی رشد در نوک ریشه شده و همچنین کاهش توسعه برگ به علت کاهش ظرفیت فتوسنتز می‌گردد با این حال مقادیر بیش از حد آن در محدوده ریشه‌ها، مسمومیت گیاه را در پی خواهد داشت. سمیت بور می‌تواند مانع از رشد طولی ریشه گردد، زیرا این عنصر یکی از اجزای تشکیل دهنده دیواره سلولی اولیه بوده و مقادیر بیش از حد آن باعث اختلال در فرآیند ساخت دیواره سلولی می‌شود و در مجموع سمیت بور میتواند باعث کاهش تقسیم سلولی شده و رشد ریشه را کاهش دهد. با افزایش سطوح بور به سمت سمیت در فلفل و گوجه‌فرنگی وزن تر و خشک کاهش یافت (۱۷).

اثر متقابل سطوح مختلف بور و تنش سرمایی بر تغییرات فیزیولوژیکی و فتوسنتزی گیاه

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان محتوای نسبی و پتانسیل آب برگ را به ترتیب ۱۵ و ۲۰ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. تنش دما بر بخش ریشه میزان پتانسیل آب برگ را ۱۱ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید اما بین تنش بر بخش هوایی و ریشه ای بر محتوای نسبی آب برگ تفاوت معنی داری مشاهده نشد. در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان محتوای نسبی و پتانسیل آب برگ را به ترتیب ۱۰ و ۱۴ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان کارایی مصرف آب فتوسنتزی را ۶۴ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. تنش دما بر بخش ریشه میزان کارایی مصرف آب فتوسنتزی را ۲۲ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان کارایی مصرف آب فتوسنتزی را ۳۱ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید.

یکی از آثار منفی تنش دمای پایین آسیب به غشا سلول بوده که در توجیه این وضعیت می‌توان چنین گفت که رادیکال‌های آزاد در درون سلول باعث آسیب رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشایی شده، رادیکال‌های لیپید و پراکسی و هیدرو پراکسی تولید می‌کنند. رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند واکنشهای اکسیداسیون لیپیدها را تسریع کنند. تداوم این امر موجب تخریب بیشتر غشا سلول و خروج آب از درون سلول به فضای بین سلولی شده که نتیجه این وضعیت، بروز پدیده آب‌گزیدگی و افزایش نشت یونی است که در نهایت کاهش محتوی آب برگ را به دنبال خواهد داشت (۴). اغلب گیاهان حساس به سرما وقتی در معرض دمای پایین

تنش و در حین دوره ی باز یابی روزنه ها دوباره به حالت طبیعی خود بازگشته اند و هدایت روزنه ای افزایش یافته است. پس از آن میزان فتوسنتز به مرور افزایش یافته و باعث تولید آسمیلات های مورد نیاز گیاه شده است اما هریک از تیمارها بنا به میزان آسیب وارد شده در دوره تنش میزان متفاوتی از باز یابی را نشان دادند. بدین ترتیب در اکثر موارد تیمار میزان ۰/۵ پی پی ام از عنصر بور در حین تنش سرمایی از طریق ریشه بیشترین میزان بهبودی پس از باز یابی را نشان دادند. به نظر می رسد از مهمترین دلایل عدم باز یابی کامل گیاهان عدم تحمل گیاه به تنش و تولید موارد خسارت خارج از تحمل گیاه بوده است (۲۳). در طول دوره باز یابی، بازسازی فتوسیستم یک عامل محدود کننده جهت باز یابی کلروفیل و در نهایت سیستم فتوسنتزی می باشد. به عقیده محققین در گیاهان حساس مانند گوجه فرنگی در دوره تنش سرمایی فتوسیستم یک بسیار بیشتر از فتوسیستم دو آسیب می بیند (۵، ۵۴). محققین گزارش کردند که سرعت کم در جایگزینی پروتئین D1 در فتوسیستم یک عامل این کاهش سرعت باز یابی در سیستم فتوسنتزی می باشد (۱۵). پس از باز یابی درجات متفاوتی از ترمیم بر حسب سن و درجه تنش گیاه گزارش شده است. نرخ فتوسنتز بادام تحت شرایط تنش کمتر از شرایط تنش و یا شاهد گزارش شده است. در حالی که بعد از باز یابی و بهبود گیاه، نرخ فتوسنتز بالاتری نسبت به شاهد نشان داد. (۴۴). با آزمایش بر روی لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L) مشخص شد که سرعت فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه ای در حین تنش کاهش یافت ولی بعد از باز یابی سرعت بهبود فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه ای متفاوت بود به نحوی که فتوسنتز و هدایت روزنه ای بیشترین و کمترین برگشت پذیری را داشتند (۲۷).

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان تنفس را ۶۹ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. در حالی که بقیه سطوح میزان تنفس بیشتری نسبت به شاهد داشتند. تنش دما بر بخش ریشه میزان تنفس را ۲۶ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان تنفس را ۷۰ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید.

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان هدایت روزنه ای و دی اکسید کربن زیر روزنه ای را به ترتیب ۶۹ و ۵۷ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان هدایت روزنه ای و دی اکسید کربن زیر روزنه ای را به ترتیب ۲۰ و ۵ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. اثرات متقابل برای دی اکسید کربن زیر روزنه ای معنی دار نبود اما تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان هدایت روزنه ای را ۸۴ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. کاهش فتوسنتز در اثر کمبود بور عمدتاً به کاهش هدایت روزنه ها مربوط بود. با توجه به نقش بور

در حفظ تمامیت غشا ها (۱۱) که برای جذب و نگهداری پتاسیم در سلول های روزنه بعنوان اسموتیکوم لازم است و نیز نقش این عنصر در افزایش بیان پمپ غشاء پلاسمائی که برای دپلاریزه شدن غشاها و باز شدن کانال های پتاسیمی و ورود آنها به سلول های روزنه ضروری است، می توان نقش بور را به تنظیم انباشتگی یون های پتاسیم و لذا افزایش فشار اسمزی و کنترل حرکات روزنه ها نسبت داد (۱۲).

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان نشاسته را ۱۲۹ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. اثر تنش دما معنی دار نبود و در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان تنفس را ۱۴۰ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. در تنش، گیاه مولکول های کوچکتري مانند گلوکز و فروکتوز تبدیل می کند که این موضوع موجب منفی تر شدن پتانسیل آب در سلولها و تنظیم اسمزی می شود. (۲۵). بدیهی است در شرایط مصرف بهینه ی بور و خنثی سازی نسبی اثرات سرما، سطوح نشاسته در تیمار ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بیشتر باشد.

با افزایش میزان مصرف بور تجمع این عنصر در گیاه افزایش یافت. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان غلظت بور را ۱۲۹ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی افزایش داد. روند جذب عنصر بور با تنش بر بخش ریشه ای شیب بیشتری داشت.

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان فلورسانس کلروفیل را ۴۱ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. تنش دما بر بخش ریشه میزان فلورسانس کلروفیل را ۱۰ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. کاهش Fv/Fm به این معنی است که در گیاهان تحت شرایط استرس مولکولهای اکسیژن پذیرنده الکترونها ی اضافی حاصل از انرژی نورانی شده و منجر به تولید گونه های فعال اکسیژنی می شوند که این اکسیژن های فعال باعث آسیب فتواکسیداتیو به مولکولهای آلی شده و باعث آسیب رساندن به ساختار کلروپلاست و در نتیجه موجب کاهش کلروفیل می گردند. بنظر میرسد که در این آزمایش مصرف بور با نقش خود در متابولیسم نیتروژن، تولید کلروفیل افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، سنتز پروتئین و حفاظت از دیواره سلولی موجب جلوگیری از آسیب به ساختار تیلاکوئید شده و موجب بهبود در کارایی فتوسنتز گردیده است (۲۸).

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان نشت یونی را ۵۵ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان نشت یونی را ۱۳ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. در اثرات متقابل نیز مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان نشت یونی را ۴۲ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. تنش سرما از طریق تأثیر بر نفوذ پذیری غشا

سیتوپلاسم در شرایط تنش اشاره شده است (۸). گزارش شده است که نیمی از ظرفیت تنظیم اسمزی ریشه مرهون تجمع پرولین می باشد. (۵۵). اندوخته پرولین در سلولهای گیاهان عالی میتواند در نقش یک محافظ اسمزی سلول و نیز محافظ در برابر سرما عمل نماید (۳۰). تجمع مواد محلول سازگار، باعث افزایش اسمولاریته سلول شده و میتواند جریان آبی را هدایت و میزان خروج آن را کاهش دهد. این پدیده ایجاد تورگر می‌نماید که وجود آن در گسترش و توسعه سلولی ضروری است (۴۸). تجمع پرولین در اندام زمانی رخ می‌دهد که پتانسیل آبی برگ از حد خاصی پایین تر بیاید. پرولین در محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست در برابر رادیکالهای آزاد ناشی از آسیب‌های نوری نیز نقش دارد (۳). کاهش مصرف پرولین جهت سنتز پروتئین در طی تنش ممکن است دلیل احتمالی تجمع پرولین باشد (۴۵). مشاهده شده است که کمبود بور موجب افزایش انباشتگی رادیکالهای آزاد در گیاهان می‌شود (۱۱).

احتمالاً مصرف میزان متعادل عنصر بور به طریق خنثی سازی اثرات منفی تنش سرما و مکانیزم‌هایی مثل حفظ ساختار غشا (۳۳)، بهبود و افزایش رشد ریشه (۲۱)، افزایش سنتز پروتئین‌های مورد نیاز گیاه (۱۹)، تنظیم حرکات روزنه‌ای و بهبود هدایت روزنه‌ای (۵۰)، افزایش تقسیم سلولی (۲۰)، افزایش متابولیسم نیتروژن و تولید کلروفیل و پیامد آن با افزایش فتوسنتز و تولید ماده خشک (۱۷)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، تنظیم نسبت کلسیم به پتاسیم، بهینه کردن انتقال کلسیم در گیاه، تنظیم میزان آب و هدایت آن در سلول و افزایش رطوبت و محتوی نسبی آب برگ، نقل و انتقال مواد محلول (۳۲) و افزایش کارایی مصرف آب (۳۵) موجب ایجاد مقاومت نسبی در برابر تنش دمای پایین شده و آثار تنش را تعدیل ساخته است به نحوی که در گیاه رادیکال آزاد اکسیژنی کمتری تولید شده و گیاه نیاز به میزان کمتری از فنول‌ها و پرولین‌ها داشته است. اما در سطوح بالاتر از عنصر بور به دلیل تحمیل اثر سمّیت بور و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن اضافی (۳۹)، احتمالاً گیاه متحمل خسارات شدیدیتری مضاف بر خسارت سرما شده است. نقش بور در کنترل میزان فنل‌های آزاد را به افزایش القائی در فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیا لیاز و پلی فنل اکسیداز و تنظیم میزان مصرف این ترکیبات مثلاً در طی سنتز لیگنین نسبت داده اند (۱۱).

میزان غلظت آنتی اکسیدان با افزایش سطوح بور افزایش یافت. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان غلظت آنتی اکسیدان را ۱۱ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. در اثرات متقابل نیز مصرف ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه غلظت آنتی اکسیدانی را ۹۵ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. در توجیه این نتایج میتوان اینگونه استنباط نمود که در شرایط تنش دمای پایین و همچنین با افزایش سطوح عنصر بور و میل غلظت این عنصر به سمت ایجاد سمیت و به علت تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن

سبب افزایش نشت محلول‌های سلولی می‌شود. نشت یونی بیان‌کننده شدت آسیب دیدگی غشای سلولی است که در اثر تنش سرما میان گونه‌های واکنشگر اکسیژن افزایش می‌یابد و نشت یونی زیاده‌تر می‌شود (۴۱). بور با نقش متابولیکی که در کنترل واکنش‌های بیوشیمیایی و ساختمان دیواره سلول‌های گیاهی و حفظ غشای سلولی دارد موجب بهبود استحکام غشا و کاهش نشت یونی می‌گردد. (۹).

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان پروتئین برگ را ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان پروتئین برگ را ۲۳ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی بهبود بخشید. در اثرات متقابل نیز مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه پروتئین برگ را ۹۵ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. رادیکال‌های فعال اکسیژن در تنش سرما افزایش می‌یابند. این رادیکالها بسیار واکنشگر بوده و می‌توانند با خارج کردن H^+ از فسفولیپیدها موجب تشکیل رادیکال فعال اسید چرب شوند و رادیکال اسید چرب در حضور اکسیژن با تولید پراکسید اسید چرب می‌تواند ضمن تخریب چربیها و پروتئینها رادیکالهای بیشتری تولید نماید. عنصر بور با نقشی که در کارایی نیتروژن و سنتز پروتئین دارد باعث خنثی سازی و تعدیل اثرات منفی سرما در کاهش تجزیه پروتئین‌ها می‌شود (۲۹).

اثر متقابل سطوح مختلف بور و تنش سرمایی بر خصوصیات تنشی گیاه

مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان تولید پرولین ریشه و بخش هوایی را به ترتیب ۱۵ و ۳۰ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان پرولین ریشه را ۱۰۰ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی افزایش داد. در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان پرولین ریشه را ۲۷ درصد و تیمار مصرف ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی بخش هوایی میزان پرولین ساقه را ۱۵۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند.

مشابه با پرولین، مصرف ۰/۵ میلی گرم بر لیتر عنصر بور میزان تولید فنل ریشه و بخش هوایی را به ترتیب ۴۸ و ۵۳ درصد نسبت به شاهد بهبود بخشید. همچنین تنش دما بر بخش ریشه میزان فنل ریشه و بخش هوایی را به ترتیب ۱۴۷ و ۱۶ درصد نسبت به تنش بر بخش هوایی افزایش داد. در بین اثرات متقابل نیز تیمار مصرف ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بور در هنگام تنش بر روی ریشه میزان فنل ریشه و بخش هوایی را به ترتیب به میزان ۵۵ و ۱۵۷ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند. افزایش غلظت پرولین عمومی‌ترین عکس العملی است که به محض تنش سرما و در پی آن کمبود آب یا کاهش پتانسیل اسمزی مشاهده می‌شود. نقش بارز پرولین در فرآیند تنظیم اسمزی

در محیط سلول، احتمال وقوع تنش اکسیداتیو وجود دارد که باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیک سلول می‌شود. برای خنثی کردن اثر سمی رادیکالهای فعال اکسیژن، به ترکیبات آنتی اکسیدانت نیاز است (۱۴، ۳۴).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آنالیز بای پلات و مشاهدات زاویه حاده بین صفات مشاهده شد که صفاتی همچون میزان تنفس و پرولین و فنول بخش هوایی و میزان آنتی اکسیدان همبستگی بیشتری وجود دارد. همچنین بین صفات میزان ساکارز، محتوای نسبی آب برگ، میزان دی اکسید کربن زیر روزنه ای، کارایی مصرف آب فتوسنتزی و میزان فلورسانس کلروفیل نیز همبستگی وجود دارد. از طرف دیگر به لحاظ وجود زاویه حاده بین صفات وزن خشک ریشه و بخش هوایی، نرخ فتوسنتز، هدایت روزنه ای، غلظت کلروفیل و میزان پروتئین برگ نیز

منابع

همبستگی وجود دارد. همچنین نتایج استخراج شده از تجزیه بای پلات نشان دادند صفات نشت الکترولیت و پتانسیل آب برگ در زمان تنش بر بخش هوایی مطابقت داشته اند که نشانگر حساسیت این بخش از گیاه به شرایط تنش می باشد. باقی صفات بیشترین بازده خود را در شرایط تنش بر بخش ریشه ای نشان دادند. بنابراین نتایج نشان می‌دهد تنش ناگهانی دمای پایین ریشه و قسمت هوایی بر میزان بازیابی صفات رویشی و فیزیولوژیکی گوجه فرنگی اثر منفی دارد اما زمانی که دمای پایین بر قسمت هوایی تحمیل می‌شود گیاه متحمل خسارات بسیار بیشتری می‌شود که اثرات منفی خود را در دوره بازیابی نشان می‌دهد. همچنین مصرف ۰/۵ پی‌پی‌ام از عنصر بور در حین تنش سرمایی با ایجاد شرایط بهینه جهت رشد باعث خنثی سازی نسبی اثرات تنش دمای پایین شده و گیاه را در وضعیت مطلوبی نگه می‌دارد به نحوی که پس از دوره بازیابی، گیاه می‌تواند خود را به شرایط قبل از تنش سرمایی نزدیک کند.

1. Ahn S.J., Im Y.J., Chung G.C., Cho B.H., and Suh S.R. 1999. Physiological responses of grafted-cucumber leaves and rootstock roots affected by low root temperature. *Plant Cell Reports*, 19: 397-408.
2. Allen D.J., and Ort D.R. 2001. Impact of chilling temperature on photosynthesis in warm climate plants. *Trends in Plant Science*, 6: 36-42.
3. 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.
4. Azzarello E., Mugnai S., Pandolfi C., Masi E., Marone E., and Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees* 23:159-167.
5. Baba K., Itoh S., Hastings G., and Hoshina S. 1995. Photoinhibition of Photosystem I electron transfer activity in isolated Photosystem I preparations with different chlorophyll contents. *Photosynthesis Research*, 47: 121-130.
6. Bates L., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
7. Berry J.A., and Raison J.K. 1981. Response of macrophytes to temperature. *Physiological Plant Ecology*, 12:227-338.
8. Binzel M.L., Hasegawa P.M., Rhodes D., Handa S., Handa A.K., and Bressan R.A. 1987. Solute accumulation in tobacco cells adapted to NaCl. *Plant Physiology*, 84:1408-1415.
9. Blum B., and Ebercon A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. *Journal of Crop Science*, 21: 43- 47.
10. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry Quantities*, 72: 248-254.
11. Cakmak I., and Römheld V. 1997. Boron deficiency-induced impairments of cellular functions in plants. *Plant Soil*, 193:71-83.
12. Camacho-Cristóbal J.J., and González-Fontes A. 2007. Boron deficiency decreases plasmalemma H⁺-ATPase expression and nitrate uptake, and promotes ammonium assimilation into asparagines in tobacco roots. *Planta*, 226:443-451.
13. Campos P.S., Quartin V., Ramalho J. C., and Nunes M.A. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. *Plants. Journal of Plant Physiology*, 160: 283-292.
14. Chen Y., Zhang M., Chen T., Zhang Y., and Ani L. 2006. The relationship between seasonal changes in antioxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. *South African Journal of Botany*, 72: 272-279.
15. Danon A., and Mayfield S. 1994. Light-regulated translation of chloroplast messenger RNAs through redox potential. *Science*, 266:1717-1719.
16. Deepah N., Kura C., singhb H., And Kapoor H.C. 2007. Antioxidant properties in sweet pepper (*Capsicum annum*

- L.) genotypes during maturation. Food Science Technology, 40: 121-124.
17. Eraslan F., Lnal A., Gunes A., and Alpaslan M. 2007. Boron toxicity alters nitrate reductase activity, proline accumulation, membrane permeability and mineral constituents of tomato and pepper plants. Journal of Plant Nutrition, 30(6):981-994.
18. Fox J., Del Pozo-Insfrica A.D., Hee Lee J., Sargent S.A., and Talcott S. T. 2005. Ripening induced chemical and antioxidant changes in bell pepper as affect harvest maturity and postharvest ethylene exposure. Horticultural Science, 40:732-736.
19. Gheybi M., and Malakooti J. 2004. A guide for wheat, nutrient deficiency and plant nutrition. Ministry of Agriculture Publishing.
20. Guertal E.A. 2004. Boron fertilization of bentgrass. Crop Science, 44: 204-208.
21. Guidong L., Cuncang J., and Yunhua W. 2011. Distribution of boron and its forms in young "Newhall" navel orange (*Citrus sinensis*) plants grafted on two rootstocks in response to deficient and excessive boron. Soil Science Plant Nutrition, 57: 93-104.
22. Haghighi M., Heidarian S., Teixeira J., and Silva da A. 2012. The effect of Titanium amendment in N-withholding nutrient solution on physiological and photosynthesis attributes and micro-nutrient uptake of tomato. Biological Trace Element Research, 150: 381-390.
23. Hasanfard A., Nezami A., and Nabati J. 2015. Importance of plant selection for cold tolerance. Fourth International Conference on Applied Research in Agricultural Science. (in Persian with English abstract)
24. Hu Y., Zhu Z., Yang J. Ni X., and Zhu B. 2009. Grafting increase the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity Environmental and Experimental Botany, 66:270-278.
25. Irigoyen J.J., Emerich D.W., and Sanchez-Diaz M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. Physiological Plant, 84: 55-60.
26. Joshi S.C., Chandra S., and Palni L.M.S. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica, 45(4): 594-600.
27. Koichi M., Shigemi T., Toshihiko M., and Kazuyoshi K. 2005. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress. Environment of Experiment Botany, 53:205-214.
28. Koocheki A., Zand A., Rezvani Moghaddam P., Mahdavi Damghani A., Jami AL-Ahmadi M., and Vesal S. 2005. Plant Ecophysiology. Ferdowsi University of Mashhad Publication. (in Persian with English abstract)
29. Liu P. 2001. The research development of molybdenum and boron nutrition in soybean. China Agricultural Science Bulletin, 17: 41-44.
30. Lone M.I., Kueh J.S.H., Wyn Jones R.G., and Bright S.W.J. 1987. Influence of proline and glycinebetaine on salt tolerance of cultured barley embryos. Journal of Experimental Botany, 38:479-490.
31. Lyons M.J., Graham D., and Raison J.K. 1979. Low temperature stress in crop plants: The role of the membrane. Academic press, New York.
32. Malakooti M., and Tehrani M.M. 1999. The role of micronutrients in improving performance and improving product quality. Tarbiat Modares University Press. (in Persian with English abstract)
33. Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd Edition). Academic Press institute, London.
34. Molla S., Villar-Salvador P., Garcia-Fayos P., and Rubira J.L. 2006. Physiological and transplanting performance of holm oak seedlings grown in nurseries with different winter conditions. Forest Ecology and Management, 237: 218-226.
35. Mordi talavat M.M., Kazemi Z., and Siaadat S.A. 2016. Canola physiological, growth and yield response to boron application affected by heat stress due to late planting dates. Behzeraee keshavarzi, 18(1): 55-67.
36. Nasef M.A., Badran N.M., and Abd El-Hamde A.F. 2006. Response of peanut to foliar spray with boron and/or rhizobium inoculation. Journal of Applied Sciences Research, 2(12): 1330-1337.
37. O'Neil M.A., Ishii T., Albersheim P., and Darvil A.G. 2004. Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. Annual Review of Plant Biology, 55: 109-139.
38. Ort D.R. 2002. Chilling-induced limitations on photosynthesis in warm climate plants: contrasting mechanisms. Environmental Control in Biology, 40: 7-18.
39. Ouzounidou G., Ilias I., Kabataidid M., and Chatzimichail A. 2003. Comparative study of nutrient deficiencies on growth and photochemistry of tobacco. Journal of Plant Nutrition, 26: 1605-1616.
40. Quick P., Siegl G., Neuhaus E., and Feil R. 1989. Short term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose phosphate synthase. Planta, 177: 535-546.
41. Rab A., and Saltveit M.E. 1996. Differential chilling sensitivity in cucumber seedling. Physiologia Plantarum, 96: 375-382.
42. Reid R.J., Hayes J.E., Post A., Stangoulis J.C.R., and Graham R.D. 2004. A critical analysis of the cause of boron toxicity in plants. Plant, Cell and Environment, 25:1405- 1414.

43. Ritchie S.W., Nyvgen H.I., and Halady A.S. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30:105-111.
44. Romero P., Navarro J. M., Garcia F., and Ordaz P.B. 2004. Effects of regulated deficit irrigation during the pre-harvest period on gas exchange, leaf development and crop yield of mature almond trees. *Tree Physiology*, 24:303–312.
45. Saadatmand M., and Enteshari S. 2013. Effect of pre-treatment pre-treatment time with silicon on salinity tolerance in Iranian bovine herb (*Echium amoenum Fisch*) *Science and technology of greenhouse crops*, 3(12):45-56.
46. Seppanen M.M. 2000. Characterize of freezing tolerance in *Solanum commersonii* with special reference of the relationship between and oxidative stress. *Section of Crop Husbandry*, 56: 4-44.
47. Sheligl H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal*, 47-51.
48. Shimono H., Hasegawa T., Fujimura S., and Iwama K. 2004. Responses of leaf photosynthesis and plant water status in rice to low water temperture at different growth stage. *Field Crop Research*, 89: 71-83.
49. Sing R. P., Chidambara Murthy K. N., and Jayaprakash G.K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models. *Agricultural and Food Chemistry*, 50: 81–86.
50. Sotiropoulos T.E., Therios I.N., Dimassi K.N., Bosabalidis A., and Kofidis G. 2002. Nutritional status, growth, CO₂ assimilation, and leaf anatomical responses in two kiwifruit species under boron toxicity. *Journal of Plant Nutrition*, 25: 1249-1261.
51. Souza R. P., Machado Silva E.C., Lagoa J.A.B., and Silveria J.A.G. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 51:45–56.
52. Taiz L., and Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Incitute.
53. Tarigholeslami M., Kafi M., Nezami A., and Zarghami R. 2015. Effects of chilling stress on physiological and biochemical traits of three hybrid of Corn (*Zea mays* L.) in seedling stage. *Journal of Plant Research*, 29(3): 552-540.(in Persian with English abstract)
54. Tjus S.E., Møller B.L., Scheller H.V.1998. Photosystem I is an early target of photoinhibiton in barley illuminated at chilling temperatures. *Plant Physiology*, 116: 755-764.
55. Voetberg G.S., and Sharp R.E.1991. Growth of the maize primary root tip at low water potentials. III. Role of increased proline deposition in osmotic adjustment. *Plant Physiology*, 96:1125-1130.
56. Wyatt S.E., Rashotte A.M., Shipp M.J., Robertson D., and Muday G.K. 2002. Mutations in the gravity persistence signal loci in *Arabidopsis* disrupt the perception and/or signal transduction of gravitropic stimuli. *Plant Physiology*, 130(3):1426-1435.
57. Yu L., Haley S., Perret J., Harris M., andQian M.J. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *Agricultural and Food Chemistry*, 50:1619–16.
58. Zhao D.Y., Shen L., Fan B., Liu K.L., Yu M.M., Zheng Y., Ding Y., and Sheng J.P. 2009. Physiological and genetic properties of tomato fruits from two cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. *Food Chemical*, 74: 348–352.



The impact of sudden low temperature stress of root and shoot on the recovery of some of vegetative and physiological traits of tomato in the presence of boron

F.Dezhabad¹- M.Haghighi^{2*}

Received: 28-02-2018

Accepted: 12-02-2019

Introduction: Most plants, especially those that are native to hot areas, show signs of injury when exposed to low temperatures. Damages caused by cold stress occurs at the cell and organs level, which reflects it at the plant surface. Color change, chlorosis, general reduction of growth, cellular tissue destruction, non-absorption of nutrients, reduction of photosynthesis, non-transferring photosynthetic materials are from early effects of cold stress. Cellular responses to colds including loss of thoracic pressure, vacuolization, collapse of cytoplasmic membrane balance, cytoplasmic flow loss, and general organ dysfunction. The susceptibility of the plant to frost is different depending on the type of plant, variety, tissue morphology and other cellular characteristics, as well as the cold conditions of the period, time and cold intensity. In addition, it seems that organs of the plant have different degrees of cold tolerance. If the temperature of the aerial part is favorable, the low temperature of the root zone can be one of the factors limiting the root system and plant growth. The consumption of balanced boron content by neutralizing the negative effects of cold stress and mechanisms such as maintaining the structure of the membrane, improving and increasing root growth, increasing the synthesis of proteins needed for the plant, adjustment of stomatal movements and improved stomatal conductance, increased cell division, increased nitrogen metabolism and chlorophyll production, and its consequence was increased photosynthesis and dry matter production, increased activity of antioxidants, calcium / potassium ratio adjustment, optimizing the transfer of calcium in the plant, adjusting the amount of water and conducting it in the cell, increasing the moisture content and relative content of leaf water, transferring soluble materials and increasing water use efficiency creates a relative resistance to low temperature stress. Although the root temperature is very effective in plant growth, it has been less attractive. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of low temperature of root and shoot on the ability to restore plant growth and physiological activity in the presence and absence of boron.

Materials and Methods: In order to compare the impact of sudden low temperature stress of root and shoot on recovery of vegetative and physiological traits of tomato, a research was conducted in two separate experiments under controlled conditions in the greenhouse of Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology. Two experiments were factorial based on completely randomized design with 10 replications including two concentrations of boron (0, 0.5, 1 and 1.5 in ppm) and two temperature levels of shoot and root sections (10 degrees' Celsius temperature, and 11 rootstock temperatures and 22 ° C optimum and control temperatures). Indicators included photosynthesis rate, respiration rate, stomatal carbon dioxide, stomatal conductance, chlorophyll fluorescence, chlorophyll index, water use efficiency, proline, antioxidant, phenol secretion from root and leaf extracts, leaf relative water content, soluble protein concentration, ion leakage, leaf water potential, root and shoot dry weights and starch content. Finally, the analysis of the results was done by statistical software statistic and comparing the meanings by LSD test at 5% level.

Result and discussion: The results showed that the highest amount of photosynthesis, root dry weight and dry weight of the aerial part were in the consumption of 0.5 ppm of boron during abrupt stresses of low temperature on the root after the recovery period. The highest amount of stem proline and electrolyte leakage were also obtained from 0.5-1.5 ppm of boron consumption during abrupt low temperature on the shoot part. According to the results, it was found that when stress has entered from the root zone to the aerial part of the plant, the plant was in the better conditions after the recovery period. It seems that when a cold stress occurred on the roots, the plant can produced more antioxidant substances, including phenol and proline, while counteracting the relative water content of the leaves were more effective with radical agents. Thus, in normal conditions, the roots of the plant operated at a lower temperature than the airspace. They also exhibited more adaptations to the lower air at the lower temperature than the air section and the plant is less damaged. At levels above the boron element due to the effect of boron toxicity and the production of excess free oxygen radicals, the

1 and 2- Former MSc student and Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology

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

plant probably suffered more severe damage than cold damage.

Conclusions: Sudden low temperatures stresses on the root and shoot had negative effects on the recovery of the vegetative and physiological traits of tomatoes. When lower temperatures were imposed on the shoot, the plant suffered much more damages. Consumption of 0.5 ppm of boron during cold stress by creating optimal conditions for growth also caused the relative neutralization.

Keywords: Electrolyte Leakage, Photosynthesis, Proline, Root Dry Weight, Shoot Dry



ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی میوه، متابولیت‌های ثانویه و شاخص قهوه‌ای شدن ژنوتیپ سیب توسرخ بکران و برخی ارقام سیب بهاره

بهرام عابدی^{۱*} - طاهره پروانه^۲ - الهام اردکانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵

چکیده

به منظور مقایسه کیفیت سیب توسرخ بکران و برخی سیب‌های بهاره ایران، میوه‌های ژنوتیپ سیب توسرخ بکران از روستای بکران در شهرستان شاهرود و چند رقم سیب بهاره در مرحله رسیدن میوه از ایستگاه تحقیقاتی گل‌مکان شهرستان مشهد تهیه شدند. ویژگی‌های فیزیکی میوه شامل وزن تر، سفتی، وزن حجمی و ویژگی‌های شیمیایی شامل اسیدیته، اسید کل، مواد جامد محلول، شاخص طعم، میزان آنتوسیانین، محتوای فنل کل، فلاونوئید کل، قدرت ضد اکسایشی و همچنین شاخص قهوه‌ای شدن آنزیمی بافت میوه در ارقام انتخابی اندازه‌گیری شد. بیشترین مقدار قهوه‌ای شدن آنزیمی در سیب پهن و کمترین مقدار در سیب توسرخ بکران مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار مواد جامد محلول در ژنوتیپ سیب توسرخ بکران (۲۵ درجه بریکس) و کمترین مقدار در رقم گلاب کرمانشاه (۱۱/۴ درجه بریکس) بود. بیشترین مقدار شاخص طعم میوه (TA/TSS) در ارقام پهن، گلاب کرمانشاه، و گلاب کهنز و کمترین مقدار در ژنوتیپ سیب توسرخ بکران (۸/۳۸) مشاهده شد. کمترین مقدار اسیدیته (۲/۹۸) در ژنوتیپ توسرخ بکران و بیشترین مقدار (۴/۶۱) در رقم گلاب کهنز مشاهده شدند. بیشترین مقدار آنتوسیانین در سیب توسرخ بکران (۸۸/۵۰) و کمترین مقدار در رقم گلاب کرمانشاه (۸/۴۴) یافت شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بیشترین قدرت ضد اکسایشی مربوط به سیب توسرخ بکران (۹۳/۷۳ درصد) بود. سیب توسرخ بکران با دارا بودن بیشترین مقدار مواد جامد محلول، بیشترین مقدار آنتوسیانین و فلاونوئید و بیشترین قدرت ضد اکسایشی و دارا بودن طعمی مطلوب و ظاهری متمایز می‌تواند به عنوان یک میوه کاملاً بومی با مصارف تازه‌خوری و جهت تولید فراورده‌های مختلف مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: بکران، سیب توسرخ، قدرت ضد اکسایشی، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی میوه

مقدمه

گرچه بیشتر سیب‌های تجاری گوشت سفید دارند، برخی از ارقام سیب سطوح متنوعی از رنگدانه‌های قرمز در گوشت میوه را نشان می‌دهند. تصور می‌شود سیب زینتی (Crab) که منشأ آن آسیای مرکزی می‌باشد، اجداد اولیه سیب‌های گوشت قرمز باشد. این گونه مقاوم به سرمای زمستانه و خشکی می‌باشد (۱۰). خصوصیت اصلی و کلیدی سیب‌های گوشت قرمز، رنگ گوشت میوه می‌باشد که ممکن است قسمت عمده و یا تمام میوه، صورتی و یا قرمز تیره باشد. توسعه یک رقم جدید که ویژگی‌های منحصر به فردی داشته باشد، ممکن است سبب بهبود صنعت میوه کاری در دنیا شود. موفقیت ارقام جدید علاوه بر بازپسندی به تست چشائی و خواص فیزیکی آن نیز بستگی دارد. سیب‌های گوشت قرمز علاوه بر جذابیت و کیفیت خوراکی خاص بدلیل دارا بودن سطح بالای آنتوسیانین و دیگر ترکیبات فنلی در پوست و گوشت میوه موقعیت بهتری در بازار برای مصرف کننده دارند. آنتوسیانین‌ها فلاونوئیدهای قابل حل در آب

سیب یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی کشور می‌باشد. باغات بذری در کشور امکان دستیابی به تنوع قابل توجهی از ژرم پلاسما سیب را سبب شده است. تعدادی از این ژرم پلاسما به دلیل دارا بودن صفات برجسته و مطلوب بایستی به عنوان منابع با ارزش گیاهی ثبت شوند تا ضمن جلوگیری از انقراض ژنتیکی آن، مانع خروج غیر قانونی و بهره‌برداری سایر کشورها از این ذخایر با ارزش گیاهی شود.

۱ و ۳- استادیار و دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

۲- مربی بخش تحقیقات علوم زارعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، شاهرود، ایران

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.72902

سیب اجرا شد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری و ارقام

میوه‌های سیب توسرخ از باغات روستای بکران از توابع شهرستان شاهرود با طول جغرافیایی (۳۶° ۳۴' ۴۹') و عرض جغرافیایی (۵۵° ۵۰' ۷۰۳') و ارتفاع ۹۸۶ متر از سطح دریای آزاد و تعدادی ارقام سیب بهاره از ایستگاه تحقیقاتی گل‌مکان با طول جغرافیایی (۵۹° ۱۷') و عرض جغرافیایی (۳۶° ۲۹' ۰۰) متر از سطح دریا در زمان بلوغ تجاری و از درختان بالغ در تابستان سال ۱۳۹۵ با ۳۰ تکرار برداشت شدند. میوه‌ها جهت اندازه‌گیری شاخص قهوه‌ای شدن بلافاصله در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافتند. جهت تعیین زمان برداشت میوه از شاخص‌های ظاهری رسیدن میوه شامل رنگ و اندازه میوه و همچنین تعیین تعداد روز بعد از تمام گل استفاده شد. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳۰ تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه 16 آنالیز و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن ($p < 0.05$) انجام شد.

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی میوه

سفتی میوه: به منظور تعیین سفتی بافت میوه از پترومتر دستی با پروب ۸ میلی‌متری استفاده، و نتایج بر حسب کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع (نیوتن) بیان شد.

وزن میوه: وزن میوه‌ها، به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند و بر حسب گرم بیان شد.

وزن حجمی: برای اندازه‌گیری وزن حجمی، استوانه مدرجی را تا حجم معینی از آب پر کرده و سپس میوه سیب را در این استوانه فرو برده و سپس تغییرات سطح آب استوانه در دو حالت به دست آورده و در نهایت با استفاده از فرمول $d=m/v$ چگالی میوه محاسبه شد.

شاخص قهوه‌ای شدن آنزیمی: از هر رقم و ژنوتیپ سه میوه به صورت تصادفی انتخاب شده و پس از ضدعفونی شدن با هیپوکلریدسدیم و شستشوی نهایی با آب مقطر، در دمای اتاق خشک و سپس با استفاده از یک چاقوی تیز ۸ برش مساوی از میوه‌ها به ضخامت ۲ تا ۳ میلی‌متر تهیه (۱۲) و شدت قهوه‌ای شدن برش‌های سیب بعد از ۲ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق (تقریباً ۲۵ درجه سانتیگراد) با مقیاس نسبی ۱ تا ۵ با یکدیگر سنجیده شد. بدین منظور:

هستند که مسئول تعیین رنگ قرمز، صورتی، بنفش و آبی در بسیاری از میوه‌ها می‌باشند. آنتوسیانین به طور عمده در بافت اپیدرمی و گاهی در زیر بافت اپیدرمی میوه یافت می‌شود. اما در سیب‌های گوشت قرمز، کل میوه شامل آنتوسیانین می‌باشد (۳۳). این مواد هم چنین آنتی‌اکسیدان‌های قوی و دارای مواد شیمیایی بسیار فعالی هستند که برای سلامتی انسان مفید می‌باشد. از جمله آن‌ها می‌توان به حفاظت از بدن در برابر بروز بیماری‌های قلبی (۴۱)، سرطان (۴۴)، بیماری‌های چشمی (۳۲) و اختلالات عصبی ناشی از سن (۱۹) اشاره نمود.

سیب‌های توسرخ، به دلیل داشتن آب میوه قرمز رنگ از نظر مصرف کننده اغوا کننده است (۶). افزون بر آن، در این نوع آب سیب استفاده از مواد رنگی خوراکی کاهش می‌یابد (۱۴). فرگوسن و همکاران (۲) در تحقیقی نشان دادند که مصرف کنندگان مایل به پرداخت قیمت بالاتری برای آب میوه‌هایی هستند که دارای طعم و رنگ خاص بوده و یا برای سلامتی مفید باشند.

قهوه‌ای شدن آنزیمی یک مسئله مهم در صنایع تولید آب میوه، فرآوری، تولید برگه و صنعت استفاده از برش‌های تازه میوه است. بافت اغلب میوه‌ها بعد از برش دچار نوعی واکنش اکسیداسیون شده و به رنگ قهوه‌ای در می‌آید. این فرایند منجر به ایجاد ظاهری نامطلوب در میوه‌های ضربه خورده، برش‌های میوه یا در زمان فرآوری میوه‌ها می‌شود. در این واکنش که توسط آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO) کاتالیز می‌شود، ترکیبات فنلی موجود در میوه اکسید شده و تشکیل او-کوئینون‌هایی را می‌دهند که کمی رنگی هستند و سپس پلیمریزه شده و رنگدانه‌هایی را تشکیل می‌دهند که دارای شدت رنگ متفاوت هستند (۲۵). چندین عامل مانند عوامل ژنتیکی یا رقم، فعالیت آنزیمی متفاوت و در دسترس بودن پیش ماده‌های مورد نیاز، شدت و وسعت منطقه قهوه‌ای شده در بافت‌های میوه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۱). اندازه‌گیری سرعت و گستره قهوه‌ای شدن گوشت میوه در ارقام میوه می‌تواند به بهنرادران برای گزینش والدین در تلاقی‌ها کمک کند.

ترکیبات فنلی در شرایط مطلوب محیطی نیز در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند اما تنش‌های محیطی مختلف مقدار آنها را در سلول تغییر می‌دهند (۲۱). غلظت ترکیبات فنلی در ارقام مختلف متفاوت است (۲۳، ۲۴، ۴۵). این ترکیبات از شواهد فیزیولوژیکی ارزشمند در تعیین اختلاف واریته‌های مختلف به شمار می‌روند و استفاده از روش‌های بیوشیمیایی در تشخیص تفاوت ژنتیکی ارقام، نقش کلیدی این ترکیبات را در اثر متقابل گیاه و محیط نشان می‌دهد (۴۷). لذا این پژوهش با هدف بررسی اثر ژنوتیپ و رقم بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی میوه و بررسی مقدار متابولیت‌های ثانویه موجود در میوه و همبستگی مقدار هر کدام از آنها با مقدار قهوه‌ای شدن آنزیمی میوه

عدد ۱ = بدون عارضه؛

عدد ۲ = شدت کم، کمتر از ۵ درصد علائم قهوه‌ای شدن؛

عدد ۳ = متوسط بین ۵ تا ۲۰ درصد بروز علائم قهوه‌ای شدن؛

عدد ۴ = بیشتر از ۲۰ درصد و تا ۵۰ درصد بروز علائم قهوه‌ای

شدن؛

عدد ۵ = شدید، بروز علائم قهوه‌ای شدن بیشتر از ۵۰ درصد در

بافت میوه.

در نهایت شاخص قهوه‌ای شدن از فرمول زیر محاسبه شد:

شاخص قهوه‌ای شدن = مجموع (درجه قهوه‌ای شدن × درصد

متناظر با هر درجه)

مواد جامد محلول (TSS): مقدار مواد جامد محلول در آب میوه

یا میزان مواد قندی آب میوه معمولاً بر اساس درجه بریکس اندازه‌گیری می‌شود. اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول (درجه بریکس) با دستگاه رفرنس دیجیتال مدل Kruss dr 101 ساخت آلمان تعیین گردید. دستگاه ابتدا با استفاده از آب مقطر کالیبره شد، سپس چند قطره از آب میوه صاف شده در قسمت منشور دستگاه قرار گرفت و مقدار آن بر حسب درصد کل مواد جامد بیان شد.

اسیدیته کل (TA): برای اندازه‌گیری میزان اسیدیته قابل

تیتراسیون میوه از اسید سنج دیجیتال مدل GMK855 ساخت کره استفاده شد. نتایج بر حسب گرم اسید مالیک (اسید غالب) در ۱۰۰ گرم آب میوه بیان شد.

سنجش ترکیبات فنولی کل: محتوای ترکیبات فنولی کل با

استفاده از روش ویلیوگلو و همکاران (۴۹) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از نمونه‌ها با ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد حاوی اسید کلریدریک ۱ درصد سائیده و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق روی شیکر عصاره‌گیری شد. سپس مخلوط حاضر در ۳۰۰۰g سانتریفوژ و از محلول رویی جهت تعیین ترکیبات فنولی کل استفاده شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی ۷۵۰ میکرولیتر معرف فولین اضافه و مخلوط حاصل به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۷۵۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۶ درصد به آن اضافه گردید. پس از ۹۰ دقیقه جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد. برای محاسبه غلظت ترکیبات فنولی کل با استفاده از اسید گالیک منحنی استاندارد رسم گردید و غلظت ترکیبات فنولی بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش گردید.

سنجش فلاونوئیدهای کل: فلاونوئیدهای کل براساس روش

ژیشن و همکاران (۵۶) انجام شد. ۰/۱ گرم از بافت گیاهی در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به خوبی سائیده و در دور ۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید. محلول روئی جهت آزمایش‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر عصاره برداشته و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۳۰۰ میکرو لیتر سدیم نیتريت ۵ درصد بعد از ۵

دقیقه، ۶۰۰ میکرو لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به محلول اضافه شد. بعد از ۶ دقیقه ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۱ مولار به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه گردید. شدت جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده شد. غلظت فلاونوئیدها بر حسب میلی‌گرم روتین (کورستین ۳- روتینوزید) در ۱۰۰ گرم وزن تر ارائه شد.

سنجش آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل، از روش

اختلاف جذب در دو pH مختلف استفاده شد (۵۴). برای استخراج آنتوسیانین کل، ۱ میلی‌لیتر از آب میوه به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفوژ شد. پس از جدا کردن مایع بالایی نمونه‌ها برای قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS مدل PG Instruments + T80 به صورت زیر عمل شد.

برای قرائت آنتوسیانین کل از دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر استفاده شد. برای این منظور ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر با بافر ۱ (کلراید پتاسیم (KCL) ۰/۲ مولار و کلریدریک اسید ۰/۲ مولار) کالیبره شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۱ در کووت مخلوط کرده و در دو طول موج قرائت شد. پس از این مرحله دستگاه با بافر ۲ (استیک اسید ۰/۲ مولار و استات سدیم ۰/۲ مولار) کالیبره شد و ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر ۲ مخلوط شد و مانند مرحله قبل قرائت شد. میزان آنتوسیانین طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$(A_{520} \text{ pH } 4/5) - (A_{520} \text{ pH } 1) - (A_{700} \text{ pH } 1) = (A) \text{ جذب}$$

$$(10^3) (647.0^b) (10^c) (A/30200^a) = (\text{mg/L}) \text{ آنتوسیانین}$$

کل

$$10^3 = \text{ضریب تبدیل}$$

$$c = \text{درجه رقیق سازی}$$

اندازه‌گیری قدرت ضد اکسایشی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH (دی فنیل پیکریل هیدرازیل) اندازه‌گیری شد (۴). برای این منظور ۲ میلی‌گرم از نمونه‌ها را با ۱۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت شیکر کرده، و سپس با ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول متانولی نمونه را با ۳/۹ میلی‌لیتر DPPH004/0 درصد مخلوط، و به شدت تکان داده و بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی عدد جذب نور در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Cecil 2010 UV-visible) قرائت گردید. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با فرمول ذیل محاسبه شد.

$$\text{درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = \frac{A - (A_{\text{جذب نمونه}})}{A} \times 100$$

$$[\text{بلانک} / (\text{جذب نمونه} - \text{کنترل})] \times 100$$

بالانک حاوی ۰/۱ میلی لیتر عصاره متانولی نمونه و ۳/۹ میلی لیتر حلال متانول بدون DPPH و کنترل شامل ۲/۹ میلی لیتر DPPH و ۰/۱ میلی لیتر حلال متانولی بدون عصاره نمونه می باشد.

نتایج و بحث

سفتی میوه: اکثر خصوصیات کیفی میوه سیب، همچون سفتی بافت به طور ژنتیکی کنترل شده و بسته به رقم متفاوت است، به طور مثال رقم گرانی اسمیت سفت تر از رقم گلدن دلشیز است (۹). میوه های سفت تر به طور معمول مقاومت بیشتری در برابر آسیب های مکانیکی در طول حمل و نقل و زمان انبار دارند، در نتیجه از ارزش تجاری بالاتری برخوردار هستند (۱۶). سفتی بافت میوه همچنین تحت تاثیر عوامل قبل و بعد از برداشت مانند تغذیه، مدیریت باغ، پایه مورد استفاده و مسائل مربوط به زمان برداشت و انبارمانی میوه قرار می گیرد. بیشترین سفتی میوه در بین ارقام تجاری و بومی مورد بررسی مربوط به رقم ارلی دوان (۴/۴ نیوتن بر میلی متر مربع) بود. همچنین سیب مربایی مشهد به دلیل کوچک بودن میوه و پر شدن بیشتر حجم میوه با حفره بذر و بذرها، قابل مقایسه با سیب های تجاری مورد مطالعه نبوده و از سفتی بسیار بالایی نسبت به این ارقام

برخوردار بود، در حالیکه کمترین مقدار سفتی میوه برای سیب گلاب کهنز (۱/۱۴ نیوتن بر میلی متر مربع) ثبت شد (جدول ۱). در این پژوهش با توجه به اینکه پایه مورد استفاده برای تمامی ارقام به جز سیب توسرخ بکران یکسان بوده و میوه ها از یک باغ با مدیریت یکسان برداشت شده بودند، تفاوت در سفتی بافت میوه را می توان ناشی از تاثیر ژنتیک و نوع رقم دانست اگر چه در این پژوهش سیب توسرخ بکران در رده سوم از نظر سفتی بافت بین میوه های مورد بررسی قرار گرفت ولی فرامرزی و همکاران (۱۳۹۴) سفتی (۵/۶۵ نیوتن بر میلی متر مربع) را برای این میوه گزارش کرده اند که این امر را می توان به تفاوت های ذکر شده از نظر پایه مورد استفاده و حتی زمان برداشت میوه مربوط دانست.

وزن مخصوص و وزن تر میوه: وزن میوه علاوه بر این که خصوصیت ژنتیکی است تحت تاثیر عواملی مانند اقلیم، نوع پایه، مدیریت باغ، مصرف آب، کود و بار نهایی درخت قرار می گیرد (۱۱). مقدار وزن تر میوه از ۳۲/۹۴ گرم در رقم ارلی دوان تا ۸۳/۲۵ گرم در رقم تاپرد دلشیز متفاوت بود. بیشترین وزن مخصوص میوه در رقم گلاب کهنز (۱/۱۴) و کمترین آن (۱/۰۱) در رقم وینتر بنانا مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- ویژگی های فیزیکی ارقام مختلف سیب (میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

Table 1- Physical characteristics in different cultivars of apple (Mean $\pm$ SE)

رقم Cultivar	سفتی میوه Firmness (n/mm ²)	وزن میوه Fruit weight (g)	وزن حجمی Volumetric weight
سیب مربایی مشهد Morabae-Mashhad	6.25 $\pm$ 0.25 ^a	2.78 $\pm$ 0.15 ^e	2.1 $\pm$ 0.27 ^a
تاپ رد دلشیز Top Red Delicious	2.52 $\pm$ 0.09 ^d	61.69 $\pm$ 4.79 ^{bc}	1.07 $\pm$ 0.01 ^{bc}
گلاب کهنز Golab Kohanz	1.14 $\pm$ 0.10 ^e	39.12 $\pm$ 1.75 ^d	1.14 $\pm$ 0.11 ^b
وینتر بنانا Winter Banana	3.16 $\pm$ 0.05 ^{cd}	70.16 $\pm$ 4.33 ^a	1.01 $\pm$ 0.02 ^c
گلاب کرمانشاه Golab-e Kermanshah	3.03 $\pm$ 0.15 ^{cd}	41.90 $\pm$ 1.69 ^d	1.04 $\pm$ 0.01 ^c
ارلی دوان Early Devan	4.24 $\pm$ 0.18 ^b	51.81 $\pm$ 6.24 ^{ab}	1.03 $\pm$ 0.01 ^c
په پن Pepin	3.13 $\pm$ 0.18 ^{cd}	53.31 $\pm$ 2.88 ^c	1.06 $\pm$ 0.02 ^{bc}
توسرخ بکران Red-fleshed (Bekran)	3.35 $\pm$ 0.15 ^c	40.25 $\pm$ 3.11 ^d	1.08 $\pm$ 0.04 ^{bc}

اعدادی که در هرستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using Duncan test.

نوسان می باشد (۱۷). ارقام با مواد جامد محلول بیشتر به دلیل داشتن قندهای ساده دارای مزه شیرین تری هستند. قند بیشتر همراه با

ویژگی های فیزیکی میوه: مقدار مواد جامد محلول و اسیدیته میوه در طول فصل رشد، برداشت و پس از برداشت در حال

اسید) بود. نسبت TA/TSS یا شاخص طعم میوه از ۱۵/۸۷ تا ۱۳۰/۷ در ارقام مورد مطالعه متفاوت بود. بیشترین مقدار این نسبت در رقم پهن و کمترین مقدار در رقم مربایی مشهد (۱۵/۸۷) و سیب توسرخ بکران (۴۴/۱۳) مشاهده شد (جدول ۲). این ژنوتیپ طعم ملس و بسیار خوشمزه دارد (۱۳).

اسیدیته میوه: مقدار اسیدیته نشان دهنده غلظت یون هیدروژن در عصاره میوه است. مقدار اسیدیته در این تحقیق از ۲/۹۸ تا ۴/۶ متغیر بود. کمترین اسیدیته (۲/۹۸) در ژنوتیپ توسرخ بکران و بیشترین اسیدیته (۴/۶) در رقم گلاب کهنز مشاهده شدند (جدول ۲) که با نتایج فرامیزی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد.

اسیدهای آلی بیشتر، سبب ایجاد طعم ملس در میوه می‌گردد (۴۲). براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر رقم بر ویژگی‌های فیزیوشیمیایی میوه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. بیشترین مقدار مواد جامد محلول در ژنوتیپ سیب توسرخ بکران (۲۳/۳۳) درجه بریکس) ثبت شد و کمترین مقدار در رقم گلاب کرمانشاه (۱۱/۱۹) درجه بریکس) مشاهده شد (جدول ۲) که این نتایج در این مورد که سیب‌های توسرخ از مواد جامد محلول بالا و سیب‌های گلاب دارای مواد جامد محلول پایین تری نسبت به دیگر ارقام مورد بررسی بودند، با نتایج فرامیزی و همکاران (۱۳۹۴) مطابقت دارد. در این پژوهش بیشترین مقدار TA مربوط به سیب مربایی مشهد (۱/۲۱ درصد مالیک

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی ارقام مختلف سیب (میانگین $\pm$ خطای استاندارد)

Table 2- Chemical Characteristics in Apple Different cultivars (Mean $\pm$ SE)

رقم cultivar	مواد جامد محلول TSS (B°)	اسیدیته pH	TA (%)	TSS/TA
سیب مربایی مشهد Morabae-Mashhad	17.35 $\pm$ 0.25c	3.6 $\pm$ 0.00d	1.21 $\pm$ 0.15a	15.87 $\pm$ 3.56d
تاپ رد دلشیز Top Red Delicious	15.06 $\pm$ 0.62b	4.49 $\pm$ 0.04ab	0.34 $\pm$ 0.05c	53.57 $\pm$ 7.67bcd
گلاب کهنز Golab Kohanz	11.96 $\pm$ 0.51a	4.6 $\pm$ 0.02a	0.168 $\pm$ 0.02d	100.1 $\pm$ 13.46ab
وینتر بنانا Winter Banana	14.14 $\pm$ 0.86b	4.26 $\pm$ 0.04c	0.22 $\pm$ 0.02d	66.47 $\pm$ 6.72bc
گلاب کرمانشاه Golab-e Kermanshah	11.19 $\pm$ 0.33a	4.38 $\pm$ 0.05bc	0.14 $\pm$ 0.01d	87.7 $\pm$ 7.48abc
ارلی دوان Early Devan	14.51 $\pm$ 0.39b	4.29 $\pm$ 0.04c	0.17 $\pm$ 0.07d	90.73 $\pm$ 6.76abc
په پن Pepin	15.64 $\pm$ 0.23ab	4.3 $\pm$ 0.02c	0.14 $\pm$ 0.02d	130.7 $\pm$ 22.22a
توسرخ بکران red-fleshed (Bekran)	23.33 $\pm$ 1.20d	2.9 $\pm$ 0.01e	0.48 $\pm$ 0.04b	44.13 $\pm$ 3.69cd

اعدادی که در هرستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using Duncan test.

تولید این رنگدانه است که تفاوت آلل‌های آن در سیب توسرخ از MYB1 به MYB10 سبب بیان این ژن در گوشت میوه سیب‌های توسرخ شده است. بیشترین مقدار آنتوسیانین در سیب توسرخ بکران (۸۸/۵۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن در رقم گلاب کرمانشاه (۲۱/۵۳ میلی‌گرم / ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد. که این موضوع با توجه به ظاهر و رنگ مشاهده شده در ژنوتیپ سیب توسرخ بکران و دیگر ارقام نیز قابل توجیه است.

فنل کل، فلاونوئید کل و قدرت ضد اکسایشی: تفاوت ترکیبات فنلی در ارقام مختلف هم از نظر کمیت و هم از نظر نوع آنها می‌باشد (۲۶ و ۲۹). ارقام با محتوای نسبی فنل بیشتر شامل "فوجی"، "رد دلشیز"، "گالا"، "لیبرتی"، "برابر"، "آیدارد" و

آنتوسیانین: رنگ یکی از مهمترین شاخصه‌های بلوغ و کیفیت در گونه‌های درختان میوه است. آنتوسیانین نماینده گروهی از ترکیبات فلاونوئیدی شامل سیانیدین-تری-گالاکتوزید و دیگر سیانیدین گلیکوزید و هم چنین ۱ تا ۳ درصد کل فنولیک‌های سیب را در بر می‌گیرند (۵۲). آن‌ها به رنگ‌های قرمز تا ارغوانی هستند و فقط در ارقام قرمز رنگ سیب دیده می‌شوند و همزمان با رسیدن در پوست تجمع می‌یابند (۵). فاکتورهای محیطی مانند دما و نور، استرس‌های آبی و زخم فاکتورهای مهمی در انگیزش تولید آنتوسیانین هستند (۱۸ و ۵۳). آنتوسیانین رنگدانه‌ای است که محققان به تفاوت غلظت آن در ارقام سیب اشاره داشته‌اند. از نظر ژنتیکی ژن MYB در سیب مسوول

"گرانی اسمیت" (۲۹، ۳۱، ۳ و ۲۴) و ارقام دارای محتوای نسبی فنل کمتر شامل "جونگلند"، "امپایر" و "آتمن کریسپ ان وای ۶۷۴" هستند (۲۹). سیب‌های مخصوص تهیه آب میوه، دارای محتوای فنلی بین ۲۵۲۵ تا ۳۵۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تازه هستند (۴۵ و ۳۴). آب سیب دارای محتوای پلی‌فنل خیلی کمتری می‌باشد که بین ۵۴۸ تا ۱۰۸۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر است (۴۵). ولز و مک گی (۵۱) ۴۶ تا ۹۷ درصد تفاوت‌های ناشی از غلظت مواد فنلی را در ژنوتیپ‌های سیب نیوزیلند ناشی از تأثیر ژنتیک دانسته‌اند. در اروپا نیز مطالعه‌ای که بین ۸ رقم سیب تجاری انجام شد بیانگر تفاوت‌هایی متأثر از رقم در محتوای فنل کل بود (۵۲).

در آزمایش وینسون و همکاران (۵۰) که در آن ظرفیت آنتی اکسیدانی ۲۰ میوه متفاوت اندازه‌گیری شد، سیب در جایگاه هشتم قرار گرفت. خانی‌زاده و همکاران (۲۰) بیان کردند که ارقام مختلف سیب منبع بسیار غنی از ترکیبات فنلی هستند و به همین سبب دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. طبق نتایج لی و همکاران (۲۸) مواد فنلی موجود در سیب بیش از ۸۰ درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه سیب را باعث می‌شوند که البته این مقدار با توجه به نوع رقم و شرایط آب و هوایی منطقه پرورش آن بسیار متفاوت است. اگر چه

بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مورد بررسی از نظر مقدار فنل کل اندازه‌گیری شده در میوه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی بیشترین مقدار فنل کل در سیب مربایی مشهد (۱۰۲۷/۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و کمترین مقدار آن در رقم توسرخ بکران (۶۳۹/۱۶ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) مشاهده شد. از نظر مقدار فلاونوئید کل بین میوه سیب‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، بیشترین مقدار فلاونوئید در سیب مربایی مشهد (۲۴/۰۱ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) و در گروه سیب‌های خوراکی، سیب توسرخ بکران (۸/۴۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) دارای بیشترین مقدار فلاونوئید بود و کمترین مقدار فلاونوئید در رقم گلاب کهنژ (۱/۳۷ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر) بودند. از نظر قدرت ضد اکسایشی بین ارقام مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت با این وجود، بیشترین قدرت ضد اکسایشی مربوط به سیب توسرخ بکران (۹۳/۴۶٪) و کمترین مقدار آن مربوط به رقم گلاب کرمانشاه (۷۵/۷۳٪) بود. بی‌شک در این پژوهش نیز مهمترین عامل تفاوت در مقدار مواد فنلی کل، میزان فلاونوئید کل و همچنین مقدار آنتوسیانین مشاهده شده در اثر تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام مختلف می‌باشد.

جدول ۳- مقادیر آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید و قدرت ضد اکسایشی ارقام مختلف سیب

Table3- Amounts of Anthocyanins, Flavonoids and Phenolic and Antioxidant Power of Different Varieties of Apples

رقم cultivar	آنتوسیانین Anthocyanin (mg/100 ⁻¹ FW)	فنل Phenol (mg/100g ⁻¹ FW)	فلاونوئید Flavonoids (mg/100g ⁻¹ FW)	قدرت ضد اکسایشی Antioxidant power (%)
سیب مربایی مشهد Morabae-Mashhad	22.84±8.72 ^b	1027.4±92.61 ^a	24.01±4.69 ^a	93.2 ± 0.75 ^a
تاپ رد دلشز Top Red Delicious	32.09±19.01 ^b	806.09 ± 95.31 ^a	5.43±3.34 ^b	89.89±1.95 ^a
گلاب کهنژ Golab Kohanz	45.7±26.6 ^{ab}	772.9 ± 143.82 ^a	1.37±0.04 ^b	92.43± 0.76 ^a
وینتر بنانا Winter Banana	32.39±9.69 ^b	999.77 ± 139.41 ^a	4.52±0.39 ^b	92.6±0.15 ^a
گلاب کرمانشاه Golab-e Kermanshah	29.31±12.93 ^b	770.7 ± 94.55 ^a	2.12±0.59 ^b	75.73±16.75 ^a
ارلی دوان Early Devan	21.53±5.03 ^b	833.25 ± 142.07 ^a	2.98±1.0 ^b	93.0±0.44 ^a
په پن Pepin	33.45±9.47 ^b	914.75±33.81 ^a	4.66±0.25 ^b	92.98±0.16 ^a
توسرخ بکران red-fleshed (Bekran)	88.50 ± 0.00 ^a	639.16 ± 21.84 ^a	8.44±3.54 ^b	93.46± 0.46 ^a

اعدادی که در هرستون دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 0.05 probability level, using Duncan test.

نسبت به میوه‌های رسیده خیلی سریع‌تر قهوه‌ای می‌شوند. ارقام سیب "رد دلشز"، "لیبرتی"، "مک اینتاش"، "مکانت"، "رم"، "رود ایسلند"

شاخص قهوه‌ای شدن: هرچه میوه سیب زودتر برداشت شود پتانسیل قهوه‌ای شدن آن بالاتر است (۳۰، ۳۶ و ۴۸). میوه‌های نارس

گرینینگ"، استی من" و "آبدارد" میزان نسبتاً بالایی از قهوه‌ای شدن آنزیمی را نشان می‌دهند (۷، ۴۳، ۲۲، ۲۷ و ۳۵). از ارقام با میزان نسبی کمتری از قهوه‌ای شدن آنزیمی می‌توان به گرانی اسمیت "جوناگلد" امپایر "کورتلند" گلدن دلشز "آتمن کریسپ" (NY674) و "گالا اشاره کرد (۷، ۸، ۳۷، ۲۲، ۲۷ و ۳۵). ارقامی مانند گالا "پینک لیدی" گرانی اسمیت و امپایر از ارقامی هستند که معمولاً از برش‌های تازه آنها استفاده می‌شود (۳۸). آتمن کریسپ رقمی است که به دلیل حداقل میزان قهوه‌ای شدن شناخته شده ولی سفتی بافت میوه طی زمان انبارمانی حفظ نمی‌شود بنابراین در حالی

که در صنایع غذایی استفاده از برش‌های تازه این رقم مناسب نمی‌باشد، ولی هنوز مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷). در این پژوهش بیشترین میزان قهوه‌ای شدن آنزیمی در سیب مربایی مشهد و کمترین مقدار در سیب توسرخ بکران مشاهده شد (جدول ۴) محققان مقدار و شدت قهوه‌ای شدن بافت‌های میوه بعد از برش یا ضربه و مقدار مواد فنل موجود در آنها مرتبط دانسته‌اند که با توجه به میزان بالای فنل اندازه‌گیری شده در بافت‌های میوه سیب مربایی مشهد و کمترین مقدار فنل موجود در سیب توسرخ بکران این موضوع با نتایج محققان دیگر هماهنگی دارد (۳۵ و ۷).

جدول ۴- شاخص قهوه‌ای شدن آنزیمی ارقام مختلف سیب

Table 4- Enzymatic Browning Index in Apple Different cultivars

رقم Cultivar	شاخص قهوه‌ای شدن Browning Index
سیب مربایی مشهد Morabae-Mashhad	2
تاپ رد دلشز Top Red Delicious	0.625
وینتر بنانا Winter Banana	1
گلاب کهنز Golab Kohanz	1
گلاب کرمانشاه Golab-e Kermanshah	0.28
ارلی دوان Early Devan	0.58
په پن Pepin	1.8
توسرخ بکران red-fleshed (Bekran)	0.2

همبستگی بین صفات: بین میزان قهوه‌ای شدن آنزیمی و قدرت ضد اکسایشی همبستگی منفی معنی‌دار معکوس در سطح ۵ درصد (۰/۵۰۷-) مشاهده شد بدین معنی که هر چه قهوه‌ای شدن در میوه سیب کمتر اتفاق بیفتد دارای قدرت ضد اکسایشی بیشتری می‌باشد. همچنین بین میزان قهوه‌ای شدن آنزیمی و سفتی میوه (۰/۵۲۶-)، وزن تر میوه (۰/۵۰۹-)، وزن حجمی میوه (۰/۵۵۵-)، TA (۰/۴۷۵-) و نسبت TSS/TA (۰/۴۷۰-) نیز در سطح ۵ درصد همبستگی معنی‌داری مشاهده شد. همچنین بین مقدار فنل کل میوه و میزان فلاونوئید (۰/۴۳۲-)، سفتی میوه (۰/۴۴۱-)، وزن حجمی (۰/۳۹۸-)، مواد جامد محلول (۰/۴۱۱-) و اسیدیته میوه (۰/۴۲۶-) نیز همبستگی معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده شد. ارتباط بین مقدار فنل کل و فلاونوئید کل را میتوان چنین توجیه نمود که هر دوی این ترکیبات از محصولات مسیر فنیل پروپانوئید در گیاهان هستند و هر چه پیش ماده‌های ضروری برای تولید آنها در گیاهان بیشتر باشند

چرخه تولید آنها فعال تر بوده و مقدار آنها با توجه به شرایط گیاه افزایش خواهد یافت. در مورد همبستگی بین فنل و فلاونوئید کل و سفتی میوه نیز همین موضوع صادق است زیرا لیگنین که یکی از عوامل مهم در بالا بردن سفتی بافت‌های گیاهی است یکی از محصولات مسیر فنیل پروپانوئید است.

بین میزان فلاونوئید و سفتی میوه (۰/۶۱۶-)، وزن تر (۰/۴۴۳-)، وزن حجمی (۰/۸۶۴-)، TA (۰/۶۹۴-)، اسیدیته (۰/۵۸۷-) و نسبت TSS/TA (۰/۵۸۷-) نیز همبستگی معنی‌داری مشاهده شد. بین سفتی میوه و وزن تر (۰/۵۳۹-)، وزن حجمی میوه (۰/۶۸۳-) و TA (۰/۵۷۸-) در سطح ۱ درصد همبستگی معنی‌داری وجود داشت. بین میزان مواد جامد محلول و اسیدیته میوه (۰/۸۰۶-) و مقدار آنتوسیانین (۰/۴۳۸-) نیز همبستگی وجود داشت. همچنین بین اسیدیته و آنتوسیانین میوه (۰/۵۵۸-) در سطح ۱ درصد همبستگی مشاهده شد.

جدول ۵- همبستگی بین صفات مختلف فیزیکی و شیمیایی ارقام سیب

Table 5- The correlation between the physical and chemical characteristics of apple cultivars

صفات Traits	قهوه‌ای شدن Browning	فنل کل Total Phenol	فلاونوئید Flavonoids	سفتی Firmness	وزن میوه Fresh Weight	چگالی Density	TSS	TA	اسیدیته Acidity	TSS/TA	آنتوسیانین Anthocyanin
قهوه‌ای شدن Browning	1										
فنل کل Total Phenol	0.286	1									
فلاونوئید Flavonoids	0.376	0.432*	1								
سفتی Firmness	0.526*	0.441*	0.616**	1							
وزن میوه Fresh Weight	0.509*	-0.190	-0.443*	-0.539**	1						
چگالی Density	0.555*	0.398*	0.864**	0.683**	-0.688**	1					
TSS	-0.153	0.411*	0.385	0.281	-0.196	0.232	1				
TA	0.475*	0.106	0.694**	0.578**	-0.478*	0.793**	0.395	1			
اسیدیته Acidity	0.083	-0.426*	-0.587**	-0.375	0.129	-0.365	-0.806**	-0.650**	1		
TSS/TA	-0.470*	-0.372	-0.587**	-0.398	0.126	0.555**	-0.351	-0.533**	0.669**	1	
آنتوسیانین Anthocyanin	-0.196	0.153	0.224	-0.241	0.153	-0.070	0.438*	-0.050	-0.558**	0.098	1

در ارقام سیب مورد مطالعه یافت نشد.

در سیب‌های "گرانی اسمیت"، "امپایر" و "مک اینتاش" قهوه‌ای شدن با فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز همبستگی شدیدی دارد درحالی‌که در ارقام "دلشز"، "گلدن دلشز" و "کورتلند" مقدار و نوع پیش ماده‌های فنلی تأثیرات معنی‌دار بیشتری دارند (۷ و ۳۵).

در حالی‌که بین مقدار قهوه‌ای شدن آنزیمی و قدرت ضد اکسایشی همبستگی معکوس معنی‌داری وجود داشت، بدین معنی که هر چه میزان قهوه‌ای شدن در یک رقم بیشتر باشد، دارای قدرت ضد اکسایشی کمتری خواهد بود. همچنین با توجه به همبستگی‌های مشاهده شده در مورد وزن تر و قهوه‌ای شدن بدیهی است که سیب‌های آبدارتر بیشتر دچار عارضه قهوه‌ای شدن بوده‌اند. در این پژوهش مشخص شد که هر چه اسید کل در یک رقم سیب بیشتر باشد، قهوه‌ای شدن آنزیمی نیز با شدت بیشتری در برش‌های میوه رخ می‌دهد (جدول ۵). در توجیه این پدیده می‌توان به تحقیقات نیکلاس و همکاران (۳۷) اشاره کرد که قهوه‌ای شدن آنزیمی در آب میوه سیب به علت اکسید شدن کلروژنیک اسید توسط آنزیم‌های

گزارشات برخی محققان وجود همبستگی شدید بین مقدار قهوه‌ای شدن و محتوای فنل کل در ارقام سیب "امپایر"، "رم"، "گلدن دلشز" و "دلشز" را تایید می‌کند (۷ و ۳۵). در آزمایشات انجام شده توسط سان و همکاران (۴۶) مشخص شد که ارتباط مستقیمی بین محتوای فنل میوه و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی در ۱۱ نوع میوه رایج وجود داشت که بیانگر مشارکت عمده ترکیبات فنلی در فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی میوه‌هاست.

فنل و فلاونوئید کل همبستگی زیادی با فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی با ضریب همبستگی به ترتیب ۰/۸۲۲ و ۰/۷۱۷ نشان می‌دهند (۵۵). همچنین طبق گزارش قربانی و بخشی (۱۵) ضریب همبستگی بین مقدار فنل کل و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی بین پوست (۰/۸۶) و گوشت (۰/۹۳) نشان می‌دهد که ارتباط مستقیمی بین فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی و مقدار فنل کل وجود دارد.

رفیعی و همکاران (۴۰) نیز اشاره کرده‌اند که ارقام ایرانی، ترکیبات فنلی و قدرت ضد اکسایشی زیادی دارند. ولی در این پژوهش همبستگی معنی‌داری بین مقدار فنل و قدرت ضد اکسایشی

میوه‌ای که به تازگی در دنیا مورد توجه و اقبال پژوهشگران و مصرف کنندگان قرار گرفته است می‌تواند جایگاه شایسته‌ای در برنامه‌های اصلاحی سیب و توسعه مناطق کشت و پرورش و حتی تولید بیشتر جهت صادرات داشته باشد. همچنین از نظر صنایع غذایی این ژنوتیپ با کمترین مقدار قهوه‌ای شدن می‌تواند جهت تولید چیپس میوه و میوه خشک مورد توجه قرار گیرد، اگر چه این موضوع نیاز به انجام بررسی‌های دقیق‌تری دارد.

اکسیداتیو است که در پوست و گوشت میوه بیشتر ارقام سیب به وفور یافت می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، سیب توسرخ بکران با دارا بودن بیشترین مقدار مواد جامد محلول، بیشترین مقدار آنتوسیانین و فلاونوئید و بیشترین قدرت ضد اکسایشی و دارا بودن طعمی مطلوب و ظاهری متمایز به عنوان یک میوه کاملاً بومی و

منابع

1. Amiot M.J., Tacchini M., Aubert S., and Nicholas S. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science*, 57: 958-962.
2. Anonymous 2. 2006. Hort research- newsroom- New apple packs health pnch. <http://www.Hortresearch.co.nz/index/news/467>.
3. Biedrzycka E., and Amarowicz E. 2008. Diet and health: apple polyphenols as antioxidants. *Food Reviews International*, 24: 235-251.
4. Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science Technology*, 28: 25-30.
5. Cheynier V. 2005. Polyphenols in food are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 223S-229S.
6. Clarisse D. 2006. Hort research develops antioxidant-rich red-fleshed apple. <http://www.Foodnavigator-usa.com>
7. Coseteng M.Y., and Lee C.Y. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *Journal of Food Science*, 52: 985-989.
8. DeEll J., Toivonen P. M. A., Khanizadeh S., and Hampson C. 2009. Browning potential of new apple varieties. *Acta Hort*, 814: 529-532.
9. Defli J.R., Khanizadeh Sh., Saad F., and Ferree D.C. 2001. Factors affecting fruit firmness-A Review *Journal of American Pomology Society*, 55(1):8-27.
10. Dzhangaliev A.D., Salova T.N., and Turekhanova P.M. 2003. The wild fruits and nut plants of Kazakhstan. *Horticultural Reviews*, 29: 305-371.
11. Fallahi E., Simon B.R., Fellman J.K., Longstroth M.A., and Colt W.M. 1994. Tree growth and productivity and post harvest quality in various starins of Delicious apple. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 119 (3):389-395.
12. Fan X., Kimberly J.B., Sokoral I., Cheng-Hsing L., Ching-Hsing C., Peter C., and Zhang H.Q. 2005. Antibrowning and antimicrobial properties of sodium acid sulfate in apple slice. *Journal of Food Science*, 74: 485-492.
13. Faramarzi S., Yadollahi A., and Soltani B.M. 2014. Preliminary evaluation of genetic diversity among Iranian red fleshed apples using microsatellite marker. *Agricultural Science and Technology*, 16: 373-384.
14. Geisenheim H.P., Braun P., and Keicher R. 2009. Red apple Juice: Breeding, Drink- and Growing technology for the development of a new, innovative product. *Bulletin USAM Horticulture*, 66(1)
15. Ghorbani E., Bakhshi D. 2011. Evaluation of Content of Chlorogenic Acid, Flavonoids and Antioxidant Potential of 13 Native and Foreign Apple Cultivars. *Plant Production Technology*, 11(2): 53-62.
16. Goulao L.F., & Oliveira C. M. 2008. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends Food Science & Technology*, 19, 4-25.
17. Hasani Gh., Rezaee R., Peirasteh Y., and Henareh M. 2014. Evaluation of some spur-type and standard apple cultivars in the northwestern region of Iran. *International Journal of AgriScience*, 4(6):301-306.
18. Iglesias I., Salvia J., Torguet L., Cabús C. 2002. Orchard cooling with overtree microsprinkler irrigation to improve fruit color and quality of 'Topred Delicious' apples. *Scientia Horticulturae*, 93: 39-51.
19. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Denisova N.A., Bielinski D., Martin A., McEwen J.J., and Bickford P.C. 1999. Reversals of age-related declines in neuronal signal transduction, cognitive, and motor behavioral deficits with blueberry, spinach, or strawberry dietary supplementation. *Journal of Neuroscience*, 19: 8114-8121.
20. Khanizadeh Sh., Tsao R., Rekika D., Yang R., Charles M.T., and Rupasinghe H.P.V. 2008. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 396-401.
21. Kliebenstein D. J. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant Cell and Environment*, 27: 675-684.
22. Kuczyski A. P. 1995. The effect of cultivar on apple slice whiteness and enzymatic browning. *Zemledelska*

- Technika, 41: 51-54.
23. Lata B., Przeradzka M., and Biłkowska M. 2005. Great differences in antioxidant properties exist between 56 apple cultivars and vegetation seasons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 8970-8978.
24. Lata B., Trampczyńska A., and Pazesna J. 2009. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae*, 121: 176-181.
25. Le Bourvellec C.L., Le Quéré J.M., Sanoner P., Drilleau J.F., and Guyot S. 2004. Inhibition of apple polyphenol oxidase activity by procyanidins and polyphenol oxidation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 122-130.
26. Lee C.Y., and Smith N. L. 2000. Apples: an important source of antioxidants in the American diet. *New York Fruit Quarterly*, 8(2): 8-10.
27. Lee C.Y., and Smith N. L. 1995. Minimal processing of New York apples. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, 145: 1-11.
28. Li X.J., Hou J.H., Zhang G.L., Liu R.S., Yang Y.G., Hu Y.X., and Lin J.X. 2004. Comparison of anthocyanin accumulation and morpho-anatomical feature in apple skin during color formation at two habitats. *Scientia Horticulturae*, 99: 41-53.
29. Liu R. H., Eberhardt M. V., and Lee C. Y. 2001. Antioxidant and antiproliferative activities of selected New York apple cultivars. *New York Fruit Quarterly*, 9(2): 9-11.
30. Lozano J. E., Drudis-Biscarri R., and Ibarz-Ribas A. 1994. Enzymatic browning in apple pulps. *Journal of Food Science*, 59(3): 564-567.
31. Markowski J., and Płocharski W. 2006. Determination of phenolic compounds in apples and processed apple products. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14: 133-142.
32. Matsumoto H., Nakamura Y., Tachibana S., Kawamura S., and Hirayama M. 2003. Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin. *J. Agric. Food Chem*, 51: 3560-3563.
33. Mazza G., and Velioglu Y.S. 1992. Anthocyanin and other phenolic compounds in fruits of red-flesh apples. *Food Chem*, 43: 113-117.
34. Merwin I. A., Valois S., and Padilla-Zakour O. I. 2008. Cider apples and cidermaking techniques in Europe and North America. *Horticultural Reviews*. J. Janick, John Wiley & Sons, Inc., 34: 365-414.
35. Milani J., and Hamed M. 2005. Susceptibility of five apple cultivars to enzymatic browning. *Proceedings of the 5th International Postharvest Symposium*, 682: 2221-2226.
36. Murata M., Tsurutani M., Tomita M., Homma S., and Kaneko K. 1995. Relationship between apple ripening and browning: changes in polyphenol content and polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1115-1121.
37. Nicolas J.J., Richard-Forget F. C., Goupy P. M., Amiot M.J., & Aubert S. Y. 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(2): 109-157.
38. Peterson F. 2008. "Company Website." Retrieved 4/27/09, 2009, from <http://petersonfarmsinc.com/>.
39. Petkovsek M. M., Stampar F., and Veberic R. 2007. Parameters of inner quality of the apple scab resistant and susceptible apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 114: 37-44.
40. Rafiee M., Naseri L., Bakhshi D., Alizadeh A. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and commercial apple varieties in West Azarbaijan province. *Journal of Crops Improvement*, 14(2): 43-55.
41. Renaud, S., and M.de Lorgeril. 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 339, 1523-1526.
42. Rezaee R. 2009. Locating of suitable organic sites for organic apple production in Urmia. Final report. West Azerbaijan Agriculture Research Center, Urmia, Iran. 145p. (in Persian with English abstract).
43. Sapers G. M., and Douglas F. W. 1987. Measurement of enzymatic browning at cut surfaces and in juice of raw apple and pear fruits. *Journal of Food Science* 52:1258-1262.
44. Smith M.A.L., Marley K.A., Seigler D., Singletary K., and Meline W.B. 2000. Bioactive properties of wild blueberry fruits. *J. Food Sci*, 65, 352-356.
45. Song Y., Yao Y. X., Zhai H., Du Y. P., Chen F., and Wei S. W. 2007. Polyphenolic compound and the degree of browning in processing apple varieties. *Agricultural Sciences in China*, 6(5): 607-612.
46. Sun J., Chu Y.F., Wu X., and Liu R.H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Agricultural and Food Chemistry*, 50: 7449-7454.
47. Tattini M., Remorini D., Pinelli P., Agati G., Sarasini E., Traversi M. L., and Massai R. 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustment in response to ozone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New phytologist*, 170: 779-794.
48. Valentines M. C., Vilaplana R., Torres R., Usall J., and Larrigaudière C. 2005. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. *Postharvest Biology and Technology*, 36: 227-234.
49. Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L., & Oomah B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 4113-4117.
50. Vinson J.A., Su X., Zubik L., Bose P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry, 49(11): 5315-21.
51. Volz R.K., McGhie T.K. 2011. Genetic variability in apple fruit polyphenol composition in *Malus x domestica* and *Malus sieversii* germplasm grown in New Zealand. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 11509–11521.
 52. Vrhovsek U., Rigo A., Tonon D., and Mattivi F. 2004. Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6532-6538.
 53. Wang K.L., Micheletti D., Palmer J., Volz R., Lozano L., Espley R., Hellens R.P., Chagnè D., Rowan D.D., Troggio M., et al. (2011). High temperature reduces apple fruit color via modulation of theanthocyanin regulatory complex. *Plant Cell Environ*, 34: 1176–1190.
 54. Wrolstad R.E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Station bulletin 624. Corvallis, OR: Agricultural Experiment Station Oregon State University.
 55. Yoo K. M., Lee C. H., Lee H., Moon B., and Lee C. Y. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 106: 929-936.
 56. Zhishen J., Mengcheng T., and Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.



Evaluation of Physical Properties of Fruit, Secondary Metabolites, and Browning Index of Bekran Red Flesh apple genotype and Some Spring Apple Cultivars

B. Abedi^{1*}- T. Parvaneh²- E. Ardakani³

Received: 17-06-2018

Accepted: 07-10-2019

Introduction: Apple is one of the most important horticultural crops in Iran. The aim of this study was to investigate the effect of genotype on physical and chemical properties of fruit; to evaluate the amount of fruit secondary metabolites and correlation between them with the enzymatic browning in some Iranian apple cultivars. Recently red-fleshed apples have been attracted the attention of many researchers and fruit marketers because the flesh of those cultivars contains a high amount of red pigment anthocyanins, which show strong antioxidant activity. These cultivars have a better place in the market for the consumers because of the attractiveness, quality and high levels of anthocyanins and other phenolic compounds in fruits. Development of such new varieties with unique properties is important for improving the apple breeding and processing industry in the world. Phenolic compounds and flavonoids are products of the phenylpropanoid pathway. They are secondary metabolites and are responsible for different functions in the plant life cycle. Secondary metabolites play an important role in the quality of food (color, flavor, and odor). Also production of secondary metabolites may be a part of the plant defense system.

Materials and Methods: The fruits of 'Morabae-Mashhad', 'Top Red Delicious', 'Golab Kohanz', 'Winter Banana', 'Golab-e Kermanshah', 'Early Devan' and 'Pepin' apple cultivars were harvested manually from trees at commercial maturity stage in Mashhad city, and 'Red-flash' apple cultivar was harvested in Shahrood city (Bekran Village), Iran. Fruits were transported to the laboratory soon after harvest. The measured chemical properties were consisted of total soluble solids (TSS), titrable acidity (TA), TSS: TA, total phenol content (TPC) and Antioxidant. Titrable acidity (TA) was determined by Korean models GMK855 and reported g 100 g⁻¹ of malic acid. Total soluble solids (TSS) was determined at 20 °C with a refractometer and reported as °Brix. The pH value of fruit was measured with a pH meter at 20°C. The pH differential method was used to determine the total anthocyanin content. The absorbance of the solution was measured at 510 nm. The total phenolic content was determined by a modified Folin-Ciocalteu reagent method. This experiment was conducted according to the completely randomized design; with thirty replicates. Data were analyzed statistically by SPSS statistical software and differences among means were determined for significance at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

Results and Discussion: The highest and lowest of enzymatic browning was found in 'Pepin' and Red-flash apple cultivars, respectively. Red Delicious, Macintosh, and Liberty showed high levels of enzymatic browning. According to some researchers, there is a strong correlation between the amount of browning and total phenol content of apple varieties "Empire", "Rome", "Golden Delicious" and "Delicious" (Coseteng and Lee 1987; Milani and Hamed 2005). San *et al.* (2002) revealed that there was a direct correlation between fruit phenolic content and antioxidant activity in 11 fruit species, indicating a significant contribution of phenolic compounds in the antioxidant activity of fruits. The results showed that the effect of cultivar on physico-chemical properties of fruit was significant at 5% probability level. The concentration of total soluble solids was significantly affected by cultivar, the highest concentration of total soluble solids was observed for Red-flesh apple cultivar while the lowest was recorded in Golab-e Kermanshah. Red-flesh and Golab-e Kermanshah cultivars had the highest and the lowest anthocyanin contents and the highest and lowest of pH values were observed in Red-flesh and Golab Kohanz cultivars, respectively. The highest concentration of total phenolics was observed for

¹ and ³- Assistant Professor and PhD Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

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

²- Instructor, Horticulture Crops Research Department, Agricultural and Natural Resources Research Center of Semnan Province (Shahrood), AREEO, Shahrood, Iran

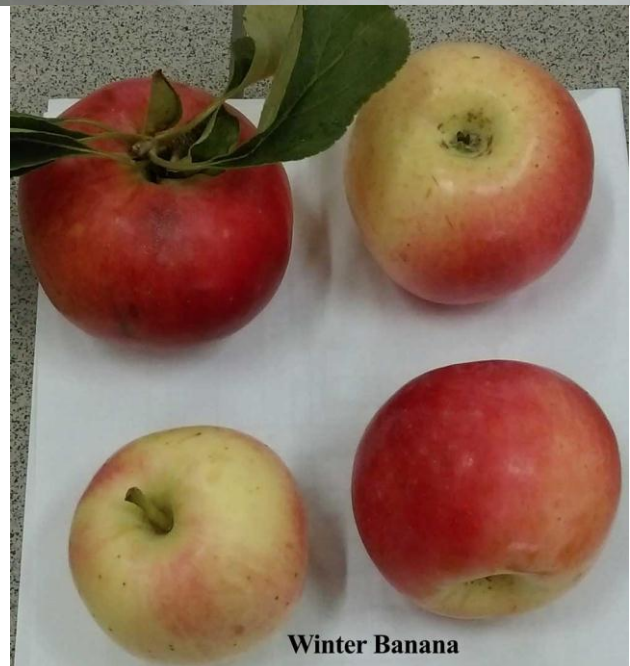
Morabae-Mashhad while the lowest was seen in Early Devan cultivars. The correlation between the enzymatic browning and antioxidant capacity of fruits was -0.507^* .

Conclusions: The present research confirms that Red-flesh apple cultivar as a native fruit has been of interest to researchers and consumers because of its high amount of soluble solids, anthocyanins and flavonoids content, high level of antioxidant capacity and having a specific flavor and taste. Therefore, it can be a worthy cultivar for apple breeding programs and development in future.

Keywords: Antioxidant capacity, Bekran, Physical and chemical characteristics, Red-flesh apple.

تصویر ارقام







بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین طی رکود جوانه گل در چند رقم گیلاس و آلبالو

اکبر انگوتی^{۱*} - جعفر حاجی‌لو^۲ - فرهنگ رضوی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۷

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین در طی رکود جوانه گل گیلاس ارقام زودرس، سیاه شبستر، زرد مشهد و یک ژنوتیپ محلی از آلبالو در آزمایشگاه بیولوژی گلدهی و فیزیولوژی رشد و نمو گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال زراعی ۱۳۹۴-۹۵ انجام شد. نمونه‌برداری از جوانه‌های درختان موجود در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان بصورت ماهانه انجام پذیرفت. وضعیت جوانه‌ها از نظر تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز) در هر مرحله نمونه‌برداری مورد بررسی قرار گرفت. سرماهای تجمعی در هر یک از این تاریخ‌های نمونه‌برداری بر طبق مدل یوتا محاسبه گردید. همچنین تغییرات وزن تر جوانه‌ها در طول دوره رکود بصورت هفتگی ارزیابی و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار تجزیه شد. نتایج نشان داد از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در طی رکود جوانه گل، اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد دیده شد. در سه آنزیم مذکور آلبالو دارای بیشترین و گیلاس رقم سیاه شبستر کمترین میزان را دارا بود بطوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیمی به ترتیب در ۳۶۰ و ۸۲۰ واحد سرمایی میزان دیده شد. از نظر میزان پرولین بین مراحل مختلف نمونه‌برداری و بین ارقام مورد مطالعه اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. نتایج بیانگر آن است که رقم گیلاس زودرس دارای بیشترین میزان پرولین و آلبالو کمترین میزان این اسید آمینه را داشته است.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، رکود جوانه، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، مدل یوتا

مقدمه

زمستان و بهار در مناطق معتدله می‌باشد. جوانه‌های درختان در این مناطق پس از ورود به مرحله خواب در زمستان، دماهای خیلی پایین را تحمل می‌کنند و صدمه نمی‌بینند ولی در صورت گرم شدن هوا از مقاومت آنها به شدت کاسته شده و به سرما حساس می‌شوند (۳۴). مطالعات مختلف در شرایط کنترل شده بر روی گیاهان جهت بررسی سازوکارهای داخلی موثر بر استراحت نشان داده است که در گیاهان هنگام ورود و خروج از این دوره تغییرات مختلفی در موادی همچون پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌ها رخ می‌دهد و عواملی مانند تغذیه و شرایط آب و هوایی در آن موثر می‌باشند (۱۴).

گیاهان به منظور مهار اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژنی از مکانیسم‌های دفاعی برخوردار می‌باشند (۲۹). آنتی اکسیدان‌ها مولکول‌ها یا ترکیباتی هستند که به عنوان از بین برنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند. این رادیکال‌ها باعث می‌شوند تا مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند که دفاع اولیه در برابر این تخریب‌های اکسیداتیو بر عهده آنتی اکسیدان‌هاست. در سلول‌های گیاهی اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها

توان تحمل به سرما بدون توقف یا القاء خواب امکان‌پذیر نخواهد بود که این خاصیت یکی از مراحل مهم در چرخه زندگی گیاهان مناطق معتدله محسوب می‌شود که در درختان از اواسط تابستان و قبل از ریزش برگ‌ها در پاییز شروع می‌شود. مطابق نظر برخی از محققین، خواب مرحله‌ای است که در آن بطور موقت رشد قابل مشاهده متوقف می‌شود (۳۷). تعریفی که در مورد خواب توسط محققین دیگر ارائه شده، عبارت است از ناتوانی مریستم و دیگر اندام‌ها و سلول‌ها در از سرگیری رشد تحت شرایط مطلوب محیطی (۳۵). این دوره یکی از عوامل مهم در جلوگیری از بروز صدمات سرما در

۱ و ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

(*)- نویسنده مسئول: (Email: akbarangooti9396@gmail.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.74475

تولید کننده‌ی اصلی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طی فرآیند فتوسنتز و تنفس می‌باشند. زنجیره انتقال الکترون در غشای تیلاکوئید مهمترین منبع تولید گونه‌های فعال اکسیژن هستند که سبب پراکسیداسیون^۱ چربی‌های غشاء می‌گردد. گونه‌های اکسیژن فعال باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند که این تنش در صورت شدید بودن منجر به آسیب به غشاء، پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها می‌شود (۴۳).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آیند (۱۲). فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های گیاهی غالباً در مواجهه با تنش‌های محیطی افزایش یافته و از این طریق گیاهان قادرند از خسارات رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده بکاهند (۱۹). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان یک تیم دفاعی هستند که هدف مشترک آن‌ها دفاع در برابر اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژنی می‌باشد (۱۵). اطلاعات در مورد فعالیت این سه آنزیم در طول نمو جوانه گل و میوه بسیار اندک است (۴۱). این سه آنزیم به صورت ایزوفرم‌های مختلف در یاخته‌ها ظاهر می‌شوند و ویژگی‌های متفاوت دارند و این گروه‌های فعال اکسیژن را از بین می‌برند (۲۹).

پروکلین یک اسید آمینه آزاد می‌باشد که از اسیدی شدن جلوگیری کرده و تنش سلولی را کاهش می‌دهد و تجمع آن در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایجاد می‌شود (۲۰). این ماده به عنوان محافظی است که قادر به محافظت از پروتئین بوده و می‌تواند فعالیت آنزیم‌های مختلف را افزایش دهد (۳۸). تعدادی از محققین تغییرات پروکلین را در جوانه‌های چند رقم زرد آلو طی فصل خواب بررسی و گزارش نمودند که مقدار پروکلین در همه ارقام سیر صعودی را از ماه مهر تا اسفند داشته است (۲). ساده‌ترین روش تعیین نیاز سرمایی ثبت افزایش در وزن خشک و تر جوانه‌های گل در طول فصل دورمانسی و بعد از پیش‌رس کردن شاخه‌های یکساله در اتاقک رشد می‌باشد (۷). در این روش زمانی که افزایش ۳۰ درصدی در وزن تر جوانه‌های گل رخ داده و یا انتقال از مرحله A به B (شروع رشد قابل رویت در جوانه) در ۳۰ درصد جوانه‌های گل صورت پذیرد پایان دورمانسی در نظر گرفته می‌شود. انتقال از مرحله A به B و افزایش در وزن تر نتایج مشابهی را به همراه دارند ولی بعضی مواقع انتقال از مرحله A به B مدتی بعد از افزایش در وزن تر جوانه نمایان می‌شوند (۴۰).

گیاهان خزان‌دار خود را به شرایط نامساعد زمستانی (که از ویژگی‌های مناطق معتدله و سردسیری می‌باشد) وفق داده و با کاهش مواد محرک رشد و افزایش مواد بازدارنده رشد در درون خود، توقف

رشد را سبب می‌شوند. در این حالت کلیه فعل و انفعالات بیوشیمیایی، جریان شیره نباتی و پتانسیل تنفسی به پایین‌ترین سطح خود تنزل یافته و رشد و نمو گیاهی نسبتاً متوقف می‌شود (۱۶). با توجه به اینکه اکثر مناطق آذربایجان دارای آب و هوای سرد می‌باشد، انتخاب و کاشت ارقامی از گیلاس که دارای نیاز سرمایی و گرمایی بالا هستند مهم به نظر می‌رسد. در این راستا به منظور تعیین زمان برآورد نیاز سرمایی و ارتباط بین تغییرات میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پروکلین با زمان برآورد شدن نیاز سرمایی، این پژوهش انجام یافت.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان و آزمایشگاه بیولوژی گلدهی و فیزیولوژی رشد و نمو میوه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. جوانه‌های گل مورد نیاز برای انجام آزمایشات از ارقام تجاری گیلاس سیاه شبستر، زرد مشهد و زودرس و یک ژنوتیپ محلی آلبالو انتخاب شدند بطوری که هر ماه یک بار از جوانه‌های مورد نظر به تعداد کافی برداشت شده (اولین نمونه‌برداری در آبان ۹۴) و ابتدا با استفاده از اسکارپل فلس‌های اطراف جوانه‌ها جدا شدند، به‌طوری که کمترین آسیب مکانیکی به آنها وارد شود و تا شروع انجام آزمایشات در داخل فویل آلومینیومی در دمای ۸۰- سانتی‌گراد درون فریزر نگهداری شدند. استخراج آنزیم‌های مورد بررسی با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۷ حاوی ۲/۰ درصد پلی وینیل پیرولیدون^۲ (PVP)، در روی یخ و هاون چینی انجام داده شد. به ازای یک گرم ماده تر سه میلی‌لیتر بافر استخراج استفاده شد. محلول هموژن شده با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل 5702 ساخت کشور آلمان) شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ، عصاره‌ی روی را جدا کرده و جهت سنجش آنزیم‌های CAT، POX، SOD و پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفتند.

تعیین نیاز سرمایی

جهت برآورد نیاز سرمایی از هر رقم چهار تکرار و از هر تکرار چهار شاخه با طول و قطر یکسان برداشته شد. اولین نمونه برداری زمانی انجام شد که دماهای بالا با اثر منفی در رفع نیاز سرمایی به ندرت (۳ آبان ۹۴) اتفاق می‌افتاد و سپس با فاصله هفت روز یک بار تا زمان رفع نیاز سرمایی این عمل تکرار شد. مرحله نمو جوانه‌های گل بعد از ۱۰ روز قرارگیری در اتاقک رشد مورد ارزیابی قرار گرفت. زمانی که ۳۰ درصد جوانه‌ها در مرحله B-C فلیکینگ^۳ (معیار تعیین

2 - Poly Vinil Pyrrolidone

3 - Fleckinger

1 - Peroxidation

NBT می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT می‌شود. برای ثبت فعالیت این آنزیم میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد (۴۴).

اندازه‌گیری غلظت پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (۸) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌های استخراج شده در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-2100 ساخت کشور آمریکا) ثبت گردید (۷).

اندازه‌گیری وزن جوانه‌ها

برای برآورد وزن تر در هر رقم ۴ تکرار و در هر تکرار ۵ جوانه از قسمت‌های مختلف شاخه انتخاب شدند، سپس وزن تر هر تکرار بطور جداگانه توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و بعد از قرارگیری شاخه‌ها در اتاقک رشد به مدت ۱۰ روز، مجدداً وزن تر جوانه‌ها اندازه‌گیری شد. در آماده‌سازی جوانه‌ها برای توزین، دقت بر این بود که جوانه‌های سالم و طبیعی به صورت تصادفی انتخاب شوند. اولین نمونه‌برداری در تاریخ ۳ آبان صورت گرفت و با فاصله ۷ روز تا مرحله اتمام رکود انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری مورد استفاده در تعیین نیاز سرمایی طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار (۴ جهت جغرافیایی) بود. داده‌های مربوط به سنجش آنزیمی و پرولین بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند بطوری که ارقام به عنوان فاکتور اول و زمان به عنوان فاکتور دوم مد نظر بود. نتایج توسط نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) صورت گرفت و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد و نمودارها توسط نرم افزار اکسل (۲۰۱۳) رسم گردید.

نتایج و بحث

اثر تیمارها بر متغیرهای اندازه‌گیری شده

نیاز سرمایی

براساس مدل یوتا، نیاز سرمایی آلبالو و گیلان ارقام زرد مشهد، زودرس و سیاه شبستر به ترتیب ۷۵۲، ۷۸۰، ۸۶۷ و ۹۶۱ محاسبه شد (شکل ۱). متفاوت بودن نیاز سرمایی ارقام گیلان و آلبالو را سایر دانشمندان نیز در مطالعات خود گزارش نموده‌اند.

مرحله فنولوژیکی جوانه‌ها) بودند به عنوان رفع زمان نیاز سرمایی در نظر گرفته شد. برآورد میزان تجمع سرمایی و نیاز سرمایی از دماهای استحصال شده از دستگاه ترموگراف (مدل-EXTECH RH520A 240 ساخت کشور آمریکا) که در باغ نصب شده بود، در هر ماه توسط مدل یوتا^۱ محاسبه گردید. این مدل یک روش اندازه‌گیری نیاز سرمایی جوانه می‌باشد که مطابق این روش دماهای زیر ۱/۴ تأثیری در رفع نیاز سرمایی ندارد. نحوه محاسبه نیاز سرمایی به این صورت بود که دمای هر ساعت، از شروع آزمایش تا پایان رکود جوانه‌ها، توسط دستگاه ترموگراف تعیین و با توجه به ارزش خاصی که برای هر دما در مدل یوتا لحاظ می‌شود، میزان نیاز سرمایی جوانه‌ها محاسبه گردید (۱۱).

سنجش فعالیت کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC: 1.11.1.6) به وسیله کاهش در جذب پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر^۲ اندازه‌گیری شد. یک یونیت فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تجزیه ۱ میکرولیتر سوبسترای پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در میلی گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (۲۳).

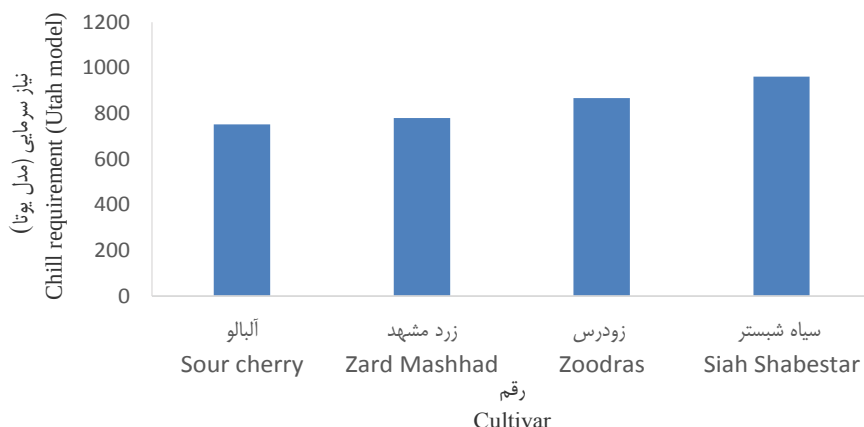
سنجش فعالیت پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز (POX, EC: 1.15.1.1) به روش تست گایاکول^۳ و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. تتراگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. یک یونیت فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تشکیل ۱ میکرولیتر تتراگایاکول در یک دقیقه در میلی گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (۴۲).

سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD, EC: 1.11.1.7) به روش ممانعت واکنش وابسته به $O_2^{\cdot -}$ توسط آنزیم اندازه‌گیری شد. در این روش سوپر اکسید به روش فتولیز ریپوفلاوین^۴ تولید می‌گردد. سپس $O_2^{\cdot -}$ ، NBT^۵ را به ترکیب ارغوانی دی فرمازان^۶ احیاء می‌کند. این روش بر اساس توانایی سوپر اکسید دیسموتاز در ممانعت از احیاء

- 1 - Utah
- 2 - Spectrophometer
- 3 - Guaiacol
- 4 - Ribiflavin
- 5 - Nitro Blue Tetrazolium Chloride
- 6 - Diformazan



شکل ۱- میزان نیاز سرمایی جوانه‌های گل ارقام مورد مطالعه زردآلو بر حسب مدل یوتا

Figure 1- Chill requirement of flower buds for apricot cultivars according to Utah model

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری بر میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز، پرولین در جوانه گل ارقام گیلاس و آلبالو

Table 1- Variance analysis of cultivar and sampling date on the activity level of superoxide dismutase, catalase, peroxidase and proline in flower buds of cherry and cherry cultivars

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS			
رقم Cultivar	3	کاتالاز CAT 339.604**	پراکسیداز POX 0.015**	سوپراکسید دیسموتاز SOD 29.17**	پرولین Proline 0.014**
تاریخ نمونه برداری Date of sampling	4	1368.720**	0.038**	43169.1**	0.029**
رقم × تاریخ نمونه برداری Date of sampling × Cultivar	12	42.623**	0.002**	27.56**	0.002**
اشتباه آزمایشی Error	60	1.793	0.01	0.84	1.33

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 1% of probability level

دیرگل‌ترین رقم گزارش گردید. همچنین ارقام بورات^۴، نیواستار^۵ و سامرست^۶ نیاز سرمایی حد واسطی را دارا بودند (۳).

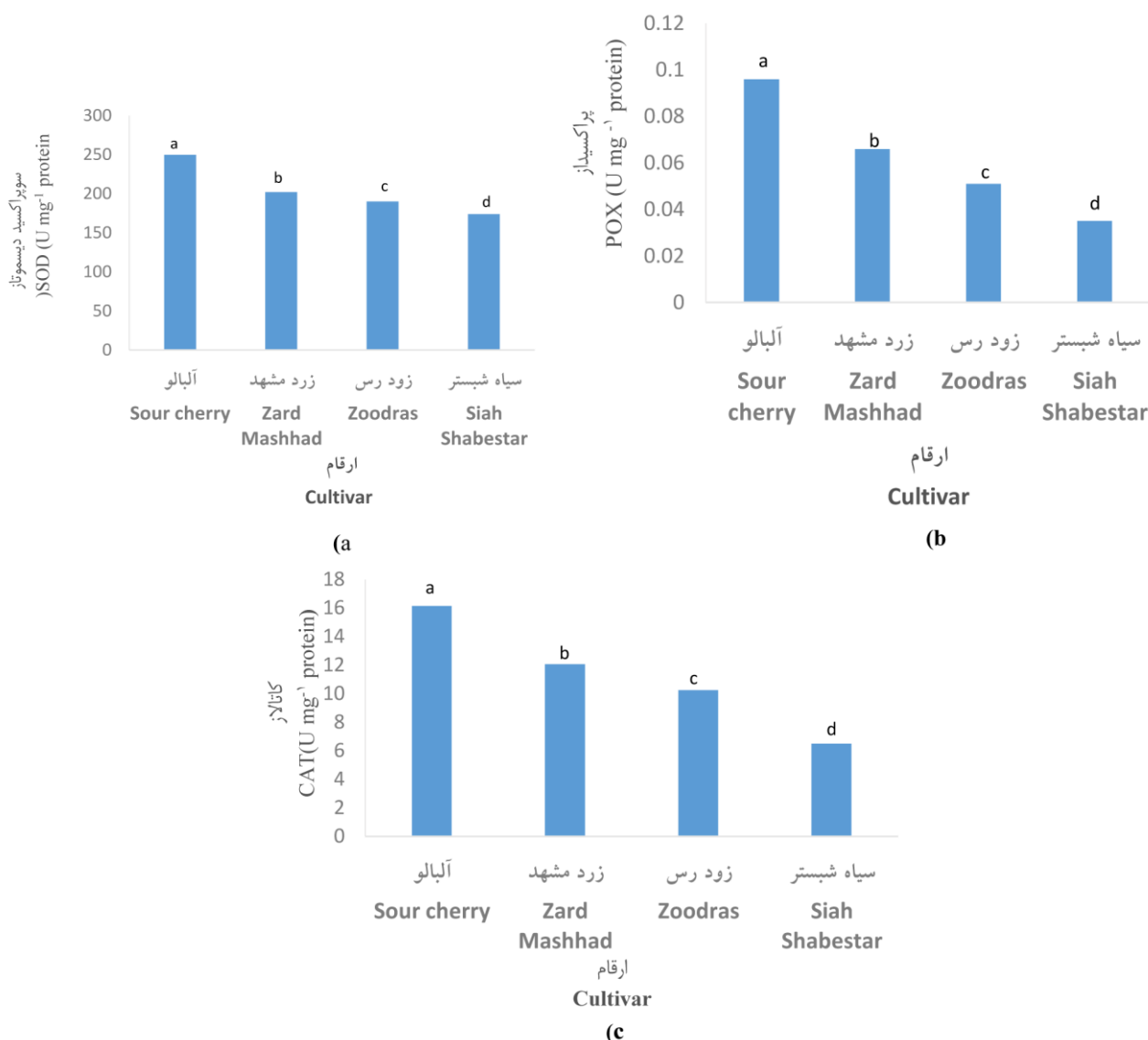
فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که از نظر مقادیر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بین ارقام و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). میانگین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ارقام مورد مطالعه در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری بر اساس تجمع نیاز سرمایی در شکل ۲a نشان داده شده است.

به عنوان مثال عده‌ای از محققین نیاز سرمایی ۷ رقم گیلاس را با مدل‌های مختلفی همچون تعداد ساعات زیر ۷ درجه سانتی‌گراد، مدل یوتا و مدل واحدهای سرمایی متغیر اندازه‌گیری و گزارش کردند که نیاز سرمایی ارقام بین سال‌های مختلف اختلاف چندانی ندارد، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین نیازهای سرمایی ارقام مشاهده شد. نیازهای سرمایی این ارقام بر اساس مدل یوتا بین ۳۹۷ تا ۱۰۰۱ واحد سرمایی گزارش شد، به گونه‌ای که ارقام کریستوبالینا^۱ و بروکس^۲ زودگل‌ترین ارقام و با کمترین نیاز سرمایی معرفی شدند در حالی که رقم ماروین^۳ با دارا بودن بالاترین ارزش سرمایی به عنوان

4- Burlat
5- New star
6- Samerest

1- Cristoballina
2- Brooks
3- Marvin



شکل ۲- میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بین ارقام مورد مطالعه آلبالو و گیلاس: (a) سوپراکسید دیسموتاز (b) پراکسیداز (c) کاتالاز.
Figure 2- The average activity of antioxidant enzymes among sweet and sour cherry cultivars a) Superoxide dismutase b) Peroxidase c) Catalase (DMRT, $p \leq 0.01$).

ممکن است مربوط به پتانسیل و جنس گیاه برای مقابله با اثرات مضر تنش‌های محیطی در فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی باشد (۴). همچنین نوع پایه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات بیوشیمیایی را در انگور رقم تامسون سیدلس^۱ تغییر می‌دهد (۲۲).

گیلاس رقم سیاه شبستر با بیشترین نیاز سرمایی، کمترین میزان فعالیت آنزیمی و زرد مشهد و زودرس ارقام حد واسط از نظر فعالیت آنزیمی بودند. همچنین آلبالو که کمترین نیاز سرمایی را داشت، بیشترین میزان فعالیت آنزیم را از خود نشان داد (جدول ۲) که این موضوع با نتایج برخی از محققین در مورد زردآلو منطبق است. این محققین بیان نمودند که در زرد آلو، رقم با نیاز سرمایی پایین دارای بالاترین فعالیت آنزیمی است (۶).

البته چون آلبالو و گیلاس از دو گونه متفاوت هستند، می‌تواند دلیل دیگری مبنی بر اختلاف فعالیت آنزیمی آلبالو و ارقام گیلاس باشد. تجمع متابولیت‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم‌ها از جمله پراکسیداز

جدول ۲- تغییرات فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو در طی بازه زمانی رکود جوانه گل
Table 2- Changes of superoxide dismutase and peroxidase enzyme activities in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during flower bud dormancy period

رقم Cultivar	تجمع سرمایی Chill Accumulation (CU)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD Activity (U/mg protein)	فعالیت پراکسیداز POX Activity (U/mg protein)
آلبالو Sour cherry	369	600 a	0.231a
	541	280 e	0.11d
	653	175 i	0.067f
	820	80 q	0.03k
	963	150.3m	0.056g
زرد مشهد Zard Mash-had	369	484.8 b	0.153b
	541	242.4f	0.073e
	653	133.3k	0.046h
	820	64.64 r	0.021 l
	963	114 o	0.039 i
زودرس Zoodras	369	457.32 c	0.121 c
	541	218.8 g	0.067 f
	653	133.3 j	0.035 j
	820	60.8 s	0.016 m
	963	121.2 n	0.03 k
سیاه شبستر Siah Shabestar	369	417.6 d	0.087 e
	541	194.8 h	0.057 g
	653	121.8 l	0.041 h
	820	55.6 t	0.011 n
	963	104.4 p	0.022 l

حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن می باشد.

Non-identical letters indicate significant difference at 1% probability level according to Duncan test

فعالیت آنزیم پراکسیداز

از نظر مقادیر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بین ارقام و زمان های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۱). میانگین میزان فعالیت پراکسیداز در ارقام مورد مطالعه در تاریخ‌های مختلف نمونه برداری نشان می‌دهد که آلبالو با کمترین نیاز سرمایی، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی و همچنین گیلاس رقم سیاه شبستر با بیشترین نیاز سرمایی کمترین

این میزان را داراست (شکل ۲b و جدول ۲) که نتایج مشابه این آزمایش را برخی از محققین در مورد زردآلو بدست آورده‌اند (۶). پراکسیدازهای گیاهی در چرخه فعالیت معمول خود، کاتالیزکننده احیاء H_2O_2 هستند. این آنزیم مشابه کاتالاز، منجر به شکستن H_2O_2 می‌شود ولی برخلاف کاتالاز به یک اهدا کننده هیدروژن نیاز دارد. مطالعات پیرامون این آنزیم به طور قابل ملاحظه‌ای انجام شده و در حال حاضر نیز در حال انجام است. تمامی محققینی که بر روی این

راستا در بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز در جوانه‌های چندین رقم از پسته در طول دوره خواب و بعد از خواب مشخص شد که افزایش فعالیت پراکسیداز در اکثر ارقام در مرحله نیش زدن جوانه‌ها (مرحله شکوفایی) رخ می‌دهد که بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در این مرحله مربوط به رقم کله قوچی بود که علت این امر بدلیل پایین بودن نیاز سرمایی این رقم است (۳۱). همچنین عده‌ای از محققین گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در جوانه‌های گل سیب رقم رد دلشیز در مرحله خواب پایین بوده سپس در طول متورم شدن جوانه به شدت افزایش یافت به گونه‌ای که در مرحله نیش زدن جوانه میزان فعالیت این آنزیم به ۲ الی ۵ برابر رسید (۱).

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف آماری را طی فصل سرما نشان داد (جدول ۱). همانند دو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز، فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در آلبالو بیشترین و برای گیلان رقم سیاه شبستر کمترین است (شکل ۲c). تفاوت در گونه و البته تفاوت در نیازهای سرمایی این ارقام را می‌توان دلیل این تفاوت بیان کرد. از نظر مقادیر فعالیت آنزیمی در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری نیز به مانند دو آنزیم قبلی، اختلافی آماری وجود دارد. با سرد شدن هوا و به خواب رفتن جوانه‌ها در خواب، روند کاهشی در فعالیت این آنزیم دیده می‌شود (شکل ۳). کاهش در فعالیت این کاتالاز همزمان با شروع دوره رکود و سپس افزایش در فعالیت این آنزیم (در زمان شکستن خواب جوانه) در جوانه‌های زردآلو، در مطالعات برخی از محققین دیده می‌شود (۳۹ و ۱۳). کاتالاز که عمدتاً در پراکسی‌زوم حضور دارد، H_2O_2 را به H_2O و O_2 تبدیل می‌کند. این آنزیم همچنین منجر به حذف الکترون‌هایی می‌شود که در تولید O^- نقش دارند (۹). گفته می‌شود که در فرایند اکسیداسیون پلی‌آمین، H_2O_2 تولید می‌شود (۵). بیوستنز و اکسیداسیون پلی‌آمین در طول نمو جوانه گل شدید است. علت افزایش کاتالاز در این مراحل می‌تواند جلوگیری این آنزیم در مهار و ممانعت از تولید H_2O_2 باشد (۱).

فعالیت کاتالاز طی تیمار با مواد شکننده دورمانسی کاهش یافت که این نتایج نشان از یک رابطه علت و معلولی بین خواب و فعالیت کاتالاز است (۳۰). گزارش شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در جوانه انگور در ماه اکتبر به حداکثر خود رسیده و پس از آن در عرض کمتر از ۳ ماه، فعالیتش به نصف کاهش یافت. کاهش در فعالیت آنزیم همزمان با کاهش دما در فصل زمستان بود. همسو با این نتایج، عده‌ای از محققین طی پژوهشی فعالیت آنزیم کاتالاز را در جوانه‌های گل رقم رد دلشیز بررسی و گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در مرحله خواب عمیق پایین می‌باشد که رفته رفته با متورم شدن جوانه فعالیت آن افزایش می‌یابد (به ۲ الی ۵ برابر) (۱). همچنین فعالیت

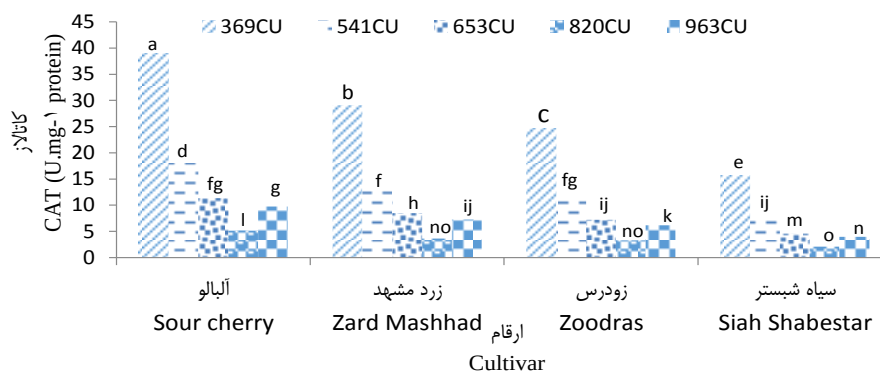
آنزیم تحقیق می‌کنند، همگی معتقد هستند که تعیین دقیق نقش فیزیولوژیک این آنزیم بسیار مشکل است و هنوز نیازمند مطالعات و تحقیقات بیشتر است (۲۸). دلایل عدم موفقیت در تعیین نقش دقیق پراکسیدازها را می‌توان در وجود تعداد زیاد ایزوآنزیم‌ها در گیاهان، اختصاصی نبودن سوسترهای مختلف برای هر یک از این ایزوفرم‌ها، عدم وجود یک ارتباط دقیق بین ساختار و عملکرد (علی رغم وجود ۴۰ الی ۶۰ درصد شباهت در ترادف آمینواسیدی) و همچنین عدم تلاش مستمر برای مطالعه ویژگی و شرایط واکنش این آنزیم دانست (۱۷).

اثر متقابل رقم در تاریخ نمونه‌برداری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در جدول (۲) آمده است، بطوریکه آلبالو -۳۶۹ واحد سرمایی دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با میانگین ۰/۲۳۱ و گیلان رقم سیاه شبستر -۸۲۰ واحد سرمایی با میانگین ۰/۱۱ کمترین این میزان را داراست. در بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز در شاخه‌های درخت راش در طول یک سال حداکثر فعالیت آنزیم پراکسیداز در ماه نوامبر یعنی زمانی که درخت برای سرمای زمستانه آماده می‌شود مشاهده شد (۴۶). همچنین تحقیقات انجام گرفته بر روی جوانه‌های زردآلو نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی فصل سرما دارای اختلاف معنی‌دار بوده بطوریکه فعالیت این آنزیم در طی فصل سرد (آذر و دی ماه) روند کاهشی را نشان داده است (۱۳). در این راستا، نتایج بررسی در چند رقم زرد آلو مشخص کرد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در ابتدا بالا بوده و به تدریج با افزایش سرما و ورود جوانه به مرحله خواب عمیق کمترین فعالیت آنزیم مشاهده شد و پس از آن در مرحله شکستن خواب یک افزایش در فعالیت این آنزیم دیده شد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم راستاست (۳۸). در تحکیم بیشتر این مدعا می‌توان به نتایج تعدادی از محققین بر روی زردآلو اشاره نمود. این محققین طی تحقیقی که روی جوانه‌های گل دو رقم کانیو^۱ و پولونایس^۲ داشتند، تغییراتی را در فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول فصل سرما مشاهده کردند. فعالیت آنزیم در طول خواب عمیق در هر دو واریته پایین بود ولی بعد از طی این دوره فعالیت آن افزایش یافت، اما سطوح فعالیت آنزیم در این دو رقم متفاوت بود، بطوریکه رقم کانیو با نیاز سرمایی پایین، افزایش فعالیت آنزیم را همزمان با پایان دورمانسی نشان داد. پایین‌ترین فعالیت آنزیمی در واریته با نیاز سرمایی بالا (پولونایس) مشاهده شد (۶).

در همه ارقام در اواخر مرحله رکود و مقارن با شکسته شدن خواب جوانه‌ها افزایش مجدد در فعالیت آنزیم پراکسیداز اتفاق افتاده است که این پدیده بی‌شباهت با نتایج برخی از محققین نیست. در این

کند. بیشترین فعالیت کاتالاز در آبان نشانه ورود به مرحله خواب است. کاهش فعالیت کاتالاز در ماه بهمن رها شدن از خواب تلقی گردیده است (۴۶).

کاتالاز در *Fagus Oriyentalis* به منظور تعیین ارتباط بین آنزیم‌ها و دوره خواب و فصل رشد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز در طی فصل رشد کم و از مرداد تا آبان افزایش می‌یابد که گیاه خود را برای خواب و شرایط سرما آماده می‌-

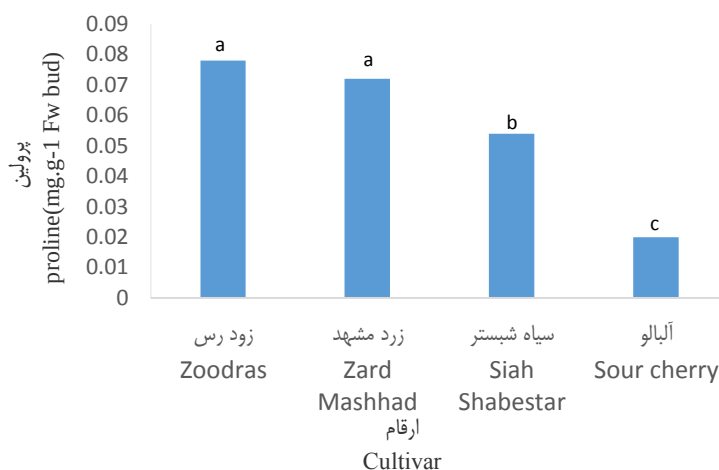


شکل ۳- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو با افزایش تجمع سرمایی
Figure 3- Catalase activity changes in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during the increasing of chill accumulation (DMRT, $p \leq 0.01$).

گیلاس زرد مشهد و زودرس اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، در حالی بین این دو رقم و رقم گیلاس سیاه شبستر و آلبالو اختلاف معنی‌داری دیده شد. رقم گیلاس زودرس بیشترین و آلبالو کمترین میزان پرولین آزاد را دارا می‌باشد (شکل ۴).

غلظت پرولین

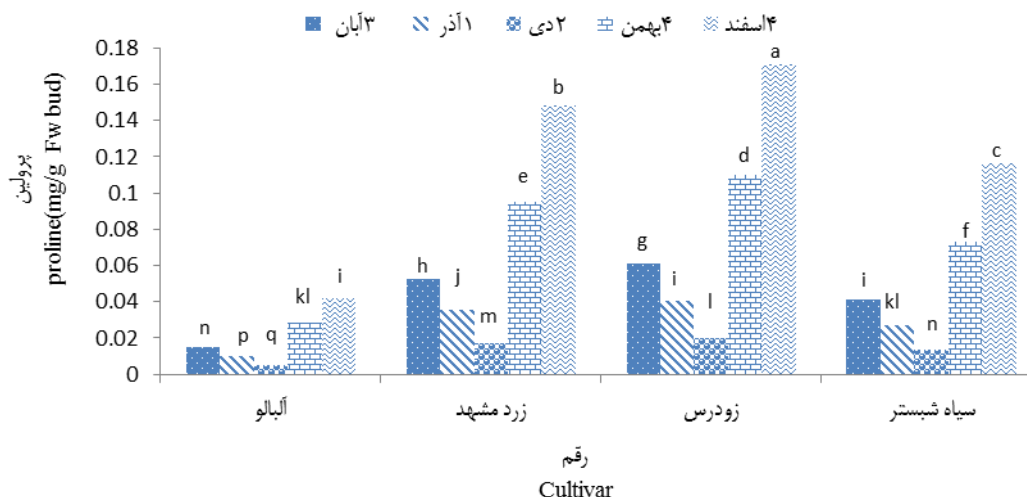
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد از نظر وجود پرولین آزاد در بین ارقام مورد بررسی نشان داد (جدول ۱). با توجه به نتایج به دست آمده، بین رقم



شکل ۴- مقدار پرولین در جوانه‌های ارقام مورد مطالعه گیلاس و آلبالو
Figure 4- Proline content in buds of sour cherry and cherry cultivars (DMRT, $p \leq 0.01$).

۰/۰۰۵ و بیشترین این میزان در رقم زودرس-۴ اسفند با میانگین ۰/۱۷۱ دیده شد (شکل ۵).

اثر متقابل رقم در تاریخ نمونه‌برداری بر میزان پرولین آزاد نشان می‌دهد که کمترین میزان پرولین آزاد در آلبالو ۲-دی با میانگین



شکل ۵- تغییرات میزان پرولین در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو طی بازه زمانی رکود جوانه گل

Figure 5- Changes in proline content in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during the period of flower bud dormancy (DMRT, $p \leq 0.01$).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری بر وزن تر جوانه‌های گل گیلاس و آلبالو طی تامین نیاز سرمایی

Table 3- Variance analysis of cultivars and sampling date on fresh weight of sweet and sour cherry flower buds during chill requirement supply

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات وزن تر MS Dry weight	
		قبل قرارگیری در اتاقک رشد Before including in growth chamber	بعد قرارگیری در اتاقک رشد After including in growth chamber
تکرار Replication	3	5412.4 ns	212.5 ns
رقم Cultivar	3	0.004**	0.001**
اشتباه آزمایش ۱ Error1	9	1214.7	20341.3
تاریخ نمونه‌برداری Date of sampling	18	0.001**	0.06**
رقم × تاریخ نمونه‌برداری Cultivar × Date of sampling	54	4283.5 ns	1213.5 ns
اشتباه ۲ Error2	228	303.6	4123.4

** و ns به ترتیب معنی‌دار و غیر معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

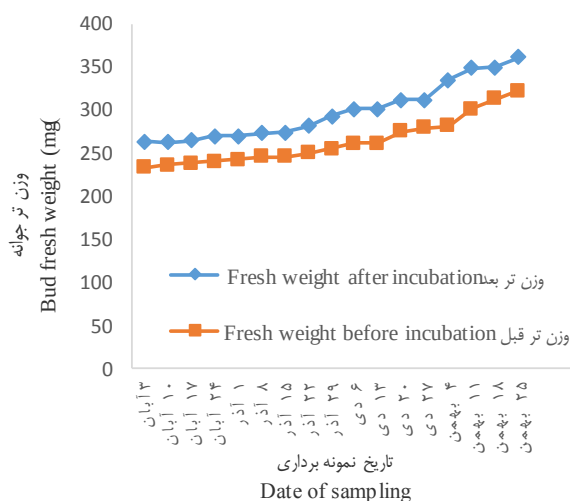
** and ns significant and non-significant at 1% probability level, respectively

پژوهش حاضر را تأیید می‌کنند، زیرا مشابه این الگوی تغییر پرولین در آن‌ها نیز دیده شده است (۲۵). عده‌ای از محققین با اندازه‌گیری پرولین درختان سیب در طول سال‌های مختلف نشان دادند که مقدار

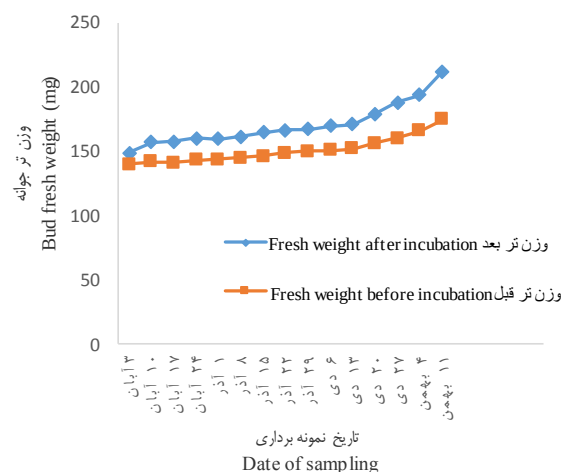
مشاهده می‌شود که مقدار پرولین تا ۲ دی ماه کاهش می‌یابد و سپس بعد از این تاریخ روند افزایشی در مقدار این اسمولیت رخ می‌دهد. تحقیقات انجام شده بر روی زردآلو و هلو نتایج حاصل از

قبل خود (از بعد از ریزش برگ‌ها تا متورم شدن) در ارقام اکبری، احمدآقایی روند افزایشی معنی‌داری داشته که این امر به خاطر تبدیل پرولین از فاز ذخیره‌ای به فرم غیر ذخیره‌ای و نیز فرم‌های دیگر بالادرس فرم قابل مصرف گیاه می‌باشد (۲۷).

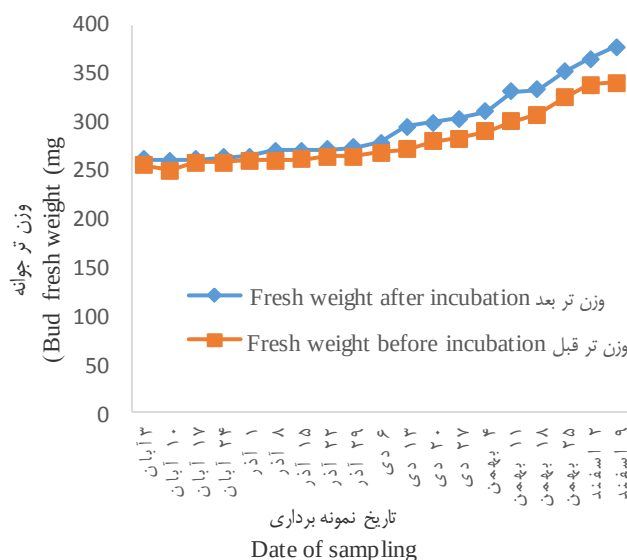
پرولین آزاد در طول خواب در حالت حد واسطه قرار دارد (۲۴). همسو با این نتایج طی پژوهشی تغییرات پرولین آزاد در طی مراحل فنولوژی جوانه گل چندین رقم پسته ارزیابی و گزارش شد که تغییرات پرولین در بین ارقام، بین زمان‌ها و رقم در زمان نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری دارد و پرولین در مرحله باز شدن گل‌ها نسبت به دوره‌های



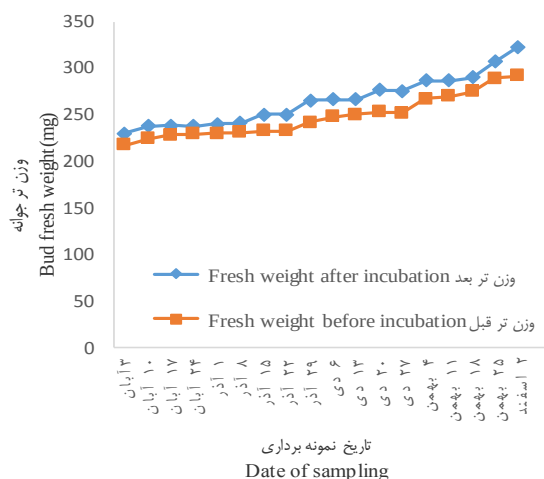
(b)



(a)



(d)



(c)

شکل ۶- تغییرات وزن تر جوانه گل ارقام گیلاس و آلبالو قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد (a) آلبالو (b) زرد مشهد (c) زودراس (d) سیاه شبستر

Figure 6- Changes in the fresh weight of the sweet and sour cherry flower buds before and after incubation in the growth chamber: a) Sourcherry b) Zard Mash-had c) Zoodras d) Siah Shabestar

اتاقک رشد و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد، اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. همچنین در هر رقم در تاریخ‌های مختلف

وزن جوانه‌ها
بین ارقام مختلف از نظر وزن تر جوانه‌ها، قبل از قرارگیری در

وزن تر نیاز سرمایی حدود ۸۰۰-۷۰۰ ساعت بیان شده در حالی که نیاز سرمایی این رقم را بر طبق روش فنولوژیکی ۸۰۰ ساعت گزارش نموده‌اند (۳). پس با توجه به نتایج تحقیقات یاد شده، در تحقیق حاضر، افزایش متفاوت در وزن تر جوانه‌ها در زمان رفع نیاز سرمایی در ارقام مورد مطالعه قابل توجه است. همچنین این گفته را عده‌ای از محققین در آزمایشات خود ثابت کرده و بیان نمودند که رفتار ارقام مختلف زردآلو از نظر تغییرات وزن تر جوانه‌ها متفاوت است به گونه‌ای که تکامل وزن جوانه‌های گل در موقع رفع نیاز سرمایی در برخی ارقام سریع‌تر است (۳۶).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان تحت تاثیر تغییرات چرخه فصلی صورت می‌گیرد و تغییرات فعالیت آنزیمی به دما بستگی دارد بطوریکه آلبالو با کمترین نیاز سرمایی دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد و گیلان سیاه شبستر که بیشترین نیاز سرمایی را دارد کمترین فعالیت آنزیمی را به خود اختصاص داده است. بر این اساس فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی جوانه‌های گل در ابتدای دوره خواب تقریباً بالا بوده ولی در طی مراحل پایان خواب کاهش فعالیت را به همراه داشت. همچنین میزان پرولین آزاد جوانه‌ها در انتهای خواب و مرحله شکستن خواب در بیشترین مقدار بود و کمترین میزان در مرحله خواب عمیق می‌باشد. پیشنهاد می‌شود که برای بررسی بهتر ارتباط بین میزان تجمع سرمایی و سیستم تغییرات آنزیمی، مطالعه گسترده‌تری با تعداد بیشتری از ارقام تجاری بومی و غیر بومی ایران در طی سال‌های مختلف انجام شود.

نمونه‌برداری، وزن تر جوانه‌ها قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد افزایش نشان می‌دهد. به طوری که اختلاف بین تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری برای هر دو صفت مذکور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

همان‌طور که در شکل ۶ (a, b, c, d) مشاهده می‌شود افزایش وزن تر برای آلبالو و ارقام گیلان سیاه شبستر، زودرس و سیاه شبستر به ترتیب ۲۵، ۲۷، ۳۱/۵ و ۳۳ درصد بود.

بیشترین میزان وزن تر قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد در رقم سیاه شبستر و کمترین این میزان در آلبالو مشاهده شد. با دقت در نمودارها، مشاهده می‌شود که بیشترین این میزان در نمونه‌برداری آخر می‌باشد که نشان‌دهنده رشد تدریجی جوانه‌ها در زمستان و همچنین رشد جزئی در زمان دورمانسی است که به تدریج با نزدیک شدن جوانه‌ها به زمان رفع نیاز دورمانسی و خروج از مرحله آندودورمانسی بیشتر می‌شود که این نتیجه با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد (۱۸ و ۳۳). پاسخ متفاوت ارقام به افزایش وزن جوانه‌ها در زمان رفع نیاز سرمایی توسط محققین مختلف گزارش شده است. عده‌ای از محققین در زردآلو افزایش ۳۰-۲۵ درصد در وزن تر و خشک را معیار ارزیابی برآورد نیاز سرمایی قرار داده و بیان کردند که افزایش در وزن تر و خشک بسته به نیاز سرمایی ارقام مورد مطالعه می‌تواند دیرتر یا زودتر مشاهده گردد. همچنین این دانشمندان بیان نمودند که قابل اعتمادترین معیار جهت ارزیابی پایان آندودورمانسی افزایش در وزن تر و خشک جوانه‌هاست (۱۸). در این آزمایش در همه ارقام مورد مطالعه، افزایش در وزن تر و خشک جوانه‌ها همزمان با رفع نیاز سرمایی بود. منطبق بودن افزایش وزن جوانه‌ها با پایان دورمانسی در اغلب ارقام گیلان سیاه شبستر توسط عده‌ای از محققین گزارش شده است و این دانشمندان تنها در رقم روبی افزایش جوانه گل را قبل از رفع نیاز سرمایی مشاهده کردند. در این رقم بر اساس روش

منابع

- 1- Abassi N.A., Kushad M.M., and Endress A.G. 1998. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. *Scientia Horticulturae*, 74: 183-194.
- 2- Abedi B., Tafazoli E., Rahemi M., Khaladbarin B., and Ganji A. 2010. Changes in sugars, starch, proline and intercostal water in the face of cold in some apricot cultivars (*armeniaca Prunus L.*). *Iranian Journal of Horticulture*, 41(4): 375-382. (In Persian)
- 3- Albuquerque N., Garcia-Montiel F., Carrillo A., and Burgos L. 2008. Chilling and heat requirements of sweet cherry cultivars and the relationship between altitude and the probability of satisfying the chill requirements. *Environmental and Experimental Botany*, 64: 162 - 170.
- 4- Allen R.D., Webb R.P., and Schake S.A. 1997. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. *Free Radical Biology and Medicine*, 23:473-479.
- 5- Angelini R., and Frederico R. 1989. Histochemical evidence of polyamine oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *Journal of Plant Physiology*, 135: 212-217.
- 6- Bartollini S., Vitti R., and Zanol J. 2004. The involvement of glutathione in flower bud dormancy overcoming in apricot. *Research Signpost*, 1: 11- 28.
- 7- Bassi D., Vitti R., and Bartolini S. 2006. Recent advances on environmental and physiological challenges in apricot growing. *Agricultural Science*, 717: 23- 31.

- 8- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and soil*, 39:205–207.
- 9- Bowler C., Montagu M.V., and Inze D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43:83–116.
- 10- Dennis F.G. 2003. Problem in standardizing methods for evaluating the chilling requirement for the breaking of dormancy in buds of woody plants. *HortScience*, 3: 347–350.
- 11- Dirk I., and Montagu M.V. 2002. Oxidative Stress in Plants. *Journal of Research Science*, 14:177-186.
- 12- Ebdali I. 2012. Evaluation of oxidative metabolism in flower buds of *Prunus armeniaca* after the developmental period during the cold season. Faculty of Natural Sciences, Tabriz University. Tabriz. Master's Thesis. (In Persian)
- 13- Felker F.C., and Robitaille H.A. 1985. Chilling accumulation and rest of sour cherry flower buds. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 110(2): 227-232.
- 14- Fridovich I. 1988. The biology of oxygen radicals: general concepts. p. 145–160. In Halliwell B (ed.) *Oxygen radicals and tissue injury*. *Journal of the American Society of Horticultural Science*.
- 15- Fuchigami L.H., and Nee C. 1987. Degree growth stage model and restbreaking mechanisms in temperate woody perennials. *HortScience*, 22:836–845.
- 16- Ghamsari L., Keyhani E., and Golkhoo Sh. 2007. Kinetics Properties of Guaiacol Peroxidase Activity in *Crocus sativus* L. Corm during. *Rooting Iranian Biomedical Journal*, 11(3): 137–146.
- 17- Guerriero R., Viti R., and Monteleone P., 2006. Evaluation of end of dormancy several apricot cultivars according to different methodological approaches. *Acta Horticulturae*, 701: 99–103.
- 18- Hamrahi S., Habibi D., Madani H., and Mashhadi M., 2008. Cycocel effect on enzymes and micro-nutrients anti as indices of oxidant stress resistance in oilseed rape. *The new data agricultural*, 3: 2–14
- 19- Hare P.D., and Cress, W.A. 2004. Implications of stress induced proline accumulation in plant. *African Journal of Biotechnology*, 9(7): 1008–1015.
- 20- Hussain S., Liu G., Liu D., Ahmed M., Hussain N., and Teng Y. 2015. Study on the expression of dehydrin genes and activities of antioxidative enzymes in floral buds of two sand pear (*Pyrus pyrifolia Nakai*) cultivars requiring different chilling hours for bud break. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(6):930–939.
- 21- Jogaiah S., Maske S.R., and Upadhyay, A. 2015. Rootstock induced changes in enzymes activity and biochemical constituents during budbreak in 'Thompson Seedless' grapevine. *Vitis*, 53(2): 57–64.
- 22- Kang, H.M., and Saltveit M.E., 2002. Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. *Plant, Cell and Environment*, 25: 1233–1238.
- 23- Khanizadeh S., Brodeur C., Granger R., and Buszard D. 2000. Factor associated with winter injury to apple trees. *International Society for Horticultural Science*, 514(20):179–192.
- 24- Lassheen A.M., and Chaplin C.E. 1971. Biochemical Comparison of Seasonal Variations in three peach cultivars differing in cold hardiness. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 96(2): 212–222.
- 25- Mansouri Deh Shoeibi R., Davari Nejad Gh., Hokmabadi H., and Tehranifar, A. 2011. Evaluation of changes in proline, total protein and soluble sugars during phenological stages of flower buds of Pistachio cultivars. *Journal of Horticultural Science*, 25(2): 116–121. (in Persian)
- 26- Mathe C, Barre A, Jourda C and Dunand C .2010. Evolution and expression of class III peroxidases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 500(1):58–65.
- 27- Monk L.S., Fagerstedt K.V., and Crawford R.M. 1989. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. *Physiol Plant*, 76: 456–459.
- 28- Nir G., Shulman Y., Fanberstein L., and Lavess S. 1986. Changes in the activity of catalase (EC1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. *Plant Physiology*, 81: 1140–1142.
- 29- Pakkish Z, Rahemi M and Baghizadeh A .2009. Seasonal change of peroxidase, polyphenol oxidase enzymes activity and phenol content during and after rest in Pistachio flower buds. *World applied Science Journal*. 6: 1193–1199.
- 30- Razavi F., Haji-lou J., and Tabatabaai S.J. 2011. Determination of the heat and chill requirements of flower buds in some peach cultivars (*Prunus persica* L.). *Journal of Horticultural Science*, 26(1): 17–24. (in Persian)
- 31- Richardson E.A., Seeley S.D., and Walker D.R. 1974. A model for estimating the completion of rest for Redhaven and Elberta peach trees. *HorstScience*, 9:331–332.
- 32- Rohde A., and Bhalerao R.P. 2007. Plant dormancy in perennial context. *Trends Plant Science*, 12: 217–223.
- 33- Ruiz D., Campoy J.A., and Egea J. 2007. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. *Environmental and Experimental Botany*, 61:254 – 263.
- 34- Saure M.C. 1985. Dormancy release in deciduous fruit tress. *Horticultural Reviews*, 7:239–300.
- 35- Szabados L., and Arnould S. 2009. Proline: a multifunctional amino. *Plant Science*, 15:89–97.
- 36- Toupchizade Tabrizian S. 2014. Evaluation of some physiological and enzymatic changes in some apricot cultivars during flower bud dormancy. Faculty of Agriculture, Tabriz University. Tabriz. Master's Thesis.
- 37- Viti R., Bartollini S., and Guerriro R. 2003. The influence of sampling from different canopy positions on the

- evaluation on flower bud anomalies and dormancy in apricot. *Fruits*, 58: 117–126.
- 38- Wang C.Y. 1991. Chilling injury of Horticultural Crops. US Department of Agriculture, Beltsville, Maryland.
- 39- Wang S., Jiao H., and Faust M. 1995. Changes in ascorbate, glutatation and related enzymes activity during thidiazuron induced bud break of apple. *Physiologia plantarum*, 82:231–236.
- 40- Yordanova R., Christork K., and Popora L.P. 2003. Antioxidative oenzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51: 93- 101.
- 41- Zhang Z., Huber D., and Rao J. 2013. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 76: 58–64.
- 42- Zhi-You Y., Xia L., Ling-Hao L., Xing-Guo., and Tian-Li Y. 2003. Effects of temperature and sevsral chemicals on metabolic changes during dormancy release in NJ72 nectariane. *Agricutural Sciences in China*, 2:549–555.
- 43- Zolfaghari R., Hosseini S.M., and Korori S.A.A. 2005. Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* L.) in three different elevations. *International journal of environmental sciensic*, 1 (2): 22–25.



Investigating of Antioxidant Enzymes and Proline Changes During the Flowering Bud Dormancy in Several Cherry Cultivars

A. Angouti^{1*} - J. Haji-lou² - F. Razavi³

Received: 29-08-2018

Accepted: 18-09-2018

Introduction: The ability to tolerate cold will not be possible without stopping or inducing sleep, which is one of the important steps in the life cycle of plants in temperate regions. This period is one of the important factors in preventing cold damages in winter and spring in temperate regions. Various studies in controlled conditions on plants have shown that in plants, when entering and leaving this period, various changes occur in materials such as proteins, enzymes and hormones. In order to control the harmful effects of active oxygen species, plants have defense mechanisms. Catalase, peroxidase and superoxide dismutase enzymes are a defensive team whose common goal is to defend against the destructive effects of active oxygen species. This study was carried out to determine the chill requirement and its relationship with the changes in the activity of antioxidants enzymes and proline.

Materials and Methods: The experiment was conducted at agricultural Research Station of Khalat-Pooshan and the Laboratory of Flower Biology and Physiology of Fruit Growth in the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tabriz University in 2015-2016. Flower buds needed for testing were selected from 'Siah Shabestar', Zard Mashhad, Zoodras cultivars and a local genotype of sour cherry. Once a month, enough buds were harvested and until the experiments began, they were kept inside the freezer inside an aluminum foil at -80 ° C. In order to estimate the chill requirement, four replicates (4 geographic directions) from each cultivar and from each replication four branches with the same length and diameter were removed. The amount of chilling accumulation and chilling requirement in each month was calculated according to Utah model. In order to estimate fresh weight, four replicates in each cultivar were selected and in each replication five buds were selected from different parts of the branch. The statistical design used in the determination of the chill requirement was a randomized complete block design. Enzymatic and proline data were analyzed in a completely randomized design as factorial

Conclusions: Chill requirement: Based on the Utah model, the chill requirement of sweet and sour cherry cultivars contains Zard Mashhad, Zoodras and Siah Shabestar were calculated 752, 780, 867 and 961 CU, respectively. There was a significant difference in the activity of superoxide dismutase enzymes between cultivars and different sampling times at 1% probability level. Siah Shabestar cultivars with the highest chill requirement had the lowest SOD enzymatic activity and Zard Mashhad and Zoodras were intermediate cultivars in terms of enzymatic activity. Sour cherries, which had the least chill requirement, showed the highest levels of SOD enzyme activity. This is consistent with the results of some researchers regarding apricot stated that the low chill apricot cultivars had the highest SOD enzymatic activity. The sour cherry had the highest amount of POX enzymatic activity with the least amount of chill requirement, and also Siah Shabestar has the least chill requirement. Like the two previous enzymes, the activity of catalase was highest in sour cherries and the lowest was observed in Siah Shabestar. In terms of the presence of free proline, there was no significant difference between the Zard Mashhad cultivars and Zoodras, while there was a significant difference between these two cultivars and Sour Cherry and Siah Shabestar. Zoodras cultivar has the highest and our cherry has the lowest amount of free proline. Between different cultivars, in terms of fresh weight of buds, there is a significant difference at 1% probability level before and after placement in the growth chamber. The increase in fresh weight of sour cherry and Zard Mashhad, Zoodras and Siah Shabestar cultivars were 25, 27, 31.5 and 33%, respectively. The highest fresh weight before and after placement in growth chamber was observed in Siah Shabestar and sour cherry was the lowest. In all the cultivars, the activity of all three enzymes were initially at maximum (369 CU), then, with the cooling of the air and the initiation of deep dormancy, the activity of these enzymes were greatly reduced (820 CU) and then again increased in the activity of this enzyme (963 CU), which is similar to other studies.

1 and 2- M.Sc. Graduated and Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, East Azarbaijan, Iran

3- Assistant professor of pomology, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran

(* - Corresponding Author Email: akbarangooti9396@gmail.com)

Conclusions: The results of this study showed that the antioxidant metabolism in plants is influenced by seasonal cycle changes and enzymatic activity changes depending on temperature, so that sour cherry with the least chill requirement has the most activity of the enzyme catalase, peroxidase and superoxide dismutase and Siah Shabestar, which have the most chill requirement, have the least enzymatic activity. Accordingly, the enzymatic antioxidant system activity of the flower buds was relatively high at the beginning of the dormancy period, but decreased during the end of dormancy. Also, the amount of free proline at the end of dormancy and the stage of dormancy breaking was highest and the lowest was in the deep dormancy period.

Keywords: Catalase, Bud dormancy, Peroxidase, Superoxide dismutase, Utah model.



تعیین زمان برداشت مناسب و قابلیت انبارمانی تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش "به" (*Cydonia oblonga* Mill.) در شرایط سردخانه

مریم تاتاری^{۱*} - مهرداد محلولی^۲ - ابراهیم قربانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۳

چکیده

نتیجه شناسایی و جمع‌آوری ژنوتیپ‌های "به" در استان اصفهان، دستیابی به ژنوتیپ‌های امیدبخش "به" بوده است. با توجه به اینکه ارزیابی خصوصیات انبارمانی و تعیین میزان مقاومت به نابسامانی‌های پس از برداشت در محصولات باغی از اهمیت وافر برخوردار است، این تحقیق با هدف تعیین مناسب‌ترین زمان برداشت و بررسی طول دوره انبارمانی برخی ژنوتیپ‌های امیدبخش "به" حاصل از جمع‌آوری ژرم‌پلاسم انجام گرفت. به این منظور میوه‌های ارقام "به" ویدوجا و "به" اصفهان به همراه ژنوتیپ‌های KVD2 و KVD4 به عنوان ژنوتیپ‌های امیدبخش در تاریخ‌های ۱۵، ۲۳ و ۳۰ مهر ماه سال ۱۳۹۵ از ایستگاه تحقیقات مبارکه برداشت شدند. میوه‌ها به سردخانه با دمای ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد منتقل گردیدند. صفات مورد ارزیابی در زمان برداشت و نیز در فواصل یک ماهه به مدت پنج ماه پس از نگهداری در سردخانه طی آزمایش فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۰ میوه در هر تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. طبق نتایج، بیش‌ترین کاهش وزن در ماه پنجم انبارمانی دیده شد. در این ماه، "به" اصفهان و ویدوجا به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین درصد کاهش وزن را نشان دادند. بیش‌ترین مواد جامد محلول و شاخص طعم در برداشت سوم و ماه پنجم و چهارم انبارمانی دیده شد. بیش‌ترین شاخص طعم متعلق به "به" اصفهان و ویدوجا بود. بیش‌ترین سفتی بافت میوه در زمان برداشت برای "به" اصفهان و ژنوتیپ KVD2 و کم‌ترین آن برای ژنوتیپ KVD4 و پس از پنج ماه انبارمانی به دست آمد. ژنوتیپ KVD4 در زمان برداشت، بیش‌ترین و "به" اصفهان، ویدوجا و KVD2 پس از انبارمانی پنج ماهه کم‌ترین محتوای فنول کل را نشان دادند. ژنوتیپ KVD4 و "به" اصفهان در زمان برداشت بیش‌ترین محتوای پکتین را نشان دادند. افزایش دوره انبارمانی مقدار پکتین و فنول را کاهش داد. قهوه‌ای شدن سطحی از ماه چهارم انبارمانی آغاز شد و اختلاف معنی‌داری با مقدار این صفت در ماه پنجم نداشت. در نهایت بهترین زمان برداشت برای ارقام و ژنوتیپ‌های اصفهان، ویدوجا، KVD2 و KVD4 به ترتیب ۱۸۵، ۲۰۰، ۲۰۰ و ۱۹۳ روز پس از تمام گل بود. نگهداری میوه ارقام "به" اصفهان و ویدوجا و ژنوتیپ KVD4 به مدت چهار ماه و میوه ژنوتیپ KVD2 به مدت پنج ماه در سردخانه قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: پس از برداشت، قهوه‌ای شدن سطحی، پکتین، محتوای فنول

مقدمه

می‌باشند. ارقام "به" اصفهان، گورتن، نیشابور و ترش آذربایجان نیز از جمله ارقام عمده "به" در داخل کشور هستند (۳۷). در بین این ارقام "به" اصفهان بیش از سایر ارقام مورد استقبال قرار گرفته است. گزارش‌هایی مبنی بر فرازگرا بودن این میوه وجود دارد (۵). میوه‌های فرازگرا قبل از رسیدن کامل و در زمان رسیدگی فیزیولوژیک برداشت می‌شوند تا از حداکثر عمر انباری برخوردار شوند. اگر میوه‌های فرازگرا قبل از رسیدن فیزیولوژیک برداشت شوند، به عطر و طعم دلخواه نخواهند رسید و در نتیجه میوه کوچک با بافت سفت و خشک باقی

"به" از خانواده گل‌سرخیان، با نام علمی *Cydonia oblonga* Mill. بوده و از نظر اهمیت اقتصادی، سومین میوه از گروه میوه‌های دانه‌دار است (۴۵). ارقام عمده و شناخته‌شده "به" در جهان شامل ارقام اورنج^۴، شامپیون^۵، پاپین ابل^۶، اسمیرنا^۷، وان دامن^۸، ری^۹ و میچ^{۱۰}

۱، ۲ و ۳- به ترتیب استادیاران و کارشناس، بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران

(*)-نویسنده مسئول:

(Email: mtatari1@gmail.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.74752

4- Orange

5- Champion

6- Pine apple

7- Smyrna

8- Van daman

9- Rea

10- Meach

جامد محلول در برداشت سوم بیش از برداشت‌های اول و دوم بوده و به ۱۳ درصد رسید. اسید قابل تیتراژ در ابتدا ۰/۷ درصد بود که پس از گذشت شش ماه به ۰/۳۵ رسید. (۳۳). با افزایش زمان انبارداری در کیوی رقم هیوارد میزان مواد جامد محلول افزایش و سفتی بافت کاهش یافت. اندازه میوه بر میزان مواد جامد محلول تاثیر معنی‌داری نداشت، اما میوه‌های کوچک‌تر نسبت به میوه‌های بزرگ‌تر سریع‌تر نرم شدند (۱۳).

وزن و مقدار آب در میوه‌های خیلی زود برداشت شده به دلیل عدم تکمیل فرآیند بلوغ فیزیولوژیک کمتر است. سرعت کاهش وزن میوه در برداشت خیلی زود به دلایل مختلف مانند اندازه کوچک‌تر میوه، بزرگی سطح تماس میوه بر اثر افزایش تعداد میوه در واحد انبار، بالا بودن تعرق نسبت به مساحت سطح میوه و ساختار تکامل نیافته پوست میوه زیاده‌تر است (۳۴). در پژوهشی ارقام سیب پینک‌لیدی^۵ و پاسیفیک‌روز^۶ به مدت ۱۹ هفته در دمای ۰/۵ درجه سانتی‌گراد در دو تیمار هوای خشک و مرطوب نگهداری شدند. وزن از دست‌دهی برای این دو رقم در هوای مرطوب به ترتیب ۲/۴ و ۱/۸ درصد و در هوای خشک ۵-۷ درصد بود (۲۴). سفتی بافت میوه با اندازه، شکل، ضخامت و استحکام سلول، ساختمان و ترکیب دیواره سلولی و نیز نحوه اتصال سلول‌ها به یکدیگر مشخص می‌شود. در طی رسیدن این عوامل تغییر کرده و منجر به ایجاد فضاهای خالی بیشتر و اتصال سلولی ضعیف‌تر می‌شود. بافت‌های با سلول‌های کوچک‌تر، سطح اتصال بین سلولی بیشتر و فضای بین سلولی کمتری دارد، لذا این بافت‌ها محکم‌تر از بافت‌های با سلول‌های بزرگ‌تر و فضای بین سلولی بیش‌تراند (۲۵). با توجه به سفتی و کم آب بودن بافت میوه در "به"، شدت بروز ناهنجاری‌ها در آن به ویژه در مراحل ابتدایی برداشت در مقایسه با میوه‌های سیب و گلابی بطور قابل توجهی کمتر است. یکی از مشکلات مهم در مدت بازاریابی ارقام "به"، قهوه‌ای شدن آنزیمی است که منتهی به نابسامانی فیزیولوژیک پس از برداشت می‌شود. این نابسامانی فیزیولوژیک به دلیل شرایط دوره رشد و نیز شرایط برداشت و انبار است (۳۳). قهوه‌ای شدن به سبب فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز رخ می‌دهد (۳). در جریان قهوه‌ای شدن آنزیمی، ترکیبات فنولی مانند کلروژنیک اسید توسط آنزیم پلی‌فنول-اکسیداز به او-کوئینون اکسید می‌شود. سپس او-کوئینون توسط فرآیند پلی‌مریزاسیون غیر آنزیمی به ملانین تبدیل می‌گردد که منجر به تخریب میوه و تشکیل رنگدانه‌های زرد یا قهوه‌ای می‌شود. در واقع ترکیبات فنولی سوبسترای پلی‌فنول اکسیدازها می‌باشند (۸). قهوه‌ای شدن سطحی در گلابی رقم نانگو^۷، پس از خروج از انبار سرد مشاهده شد (۵۲).

می‌ماند و اگر پس از رسیدن کامل چیده شوند، عمر انباری کوتاهی خواهند داشت (۱۸). انواع پوسیدگی‌ها در انبار توسط راه‌کارهای تلفیقی قبل و بعد از برداشت قابل کنترل می‌باشند. یکی از راه‌کارهای مهم رعایت زمان مناسب برداشت است (۳۲). عواملی که برای تعیین رسیدگی و زمان برداشت میوه‌ها به ویژه از نظر باغبانی اندازه‌گیری می‌شوند، سفتی بافت، رنگ پوست، رنگ گوشت، میزان مواد جامد قابل حل^۱، میزان کل اسیدها، کلروفیل و کاروتن می‌باشند. تعداد روزها از مرحله تمام گل و ذخیره واحدهای حرارتی در طول دوره‌های خاصی از فصل رشد نیز در این زمینه کاربرد دارد (۴۶).

نگهداری میوه در انبارهای با دمای پایین نیز از جمله مهم‌ترین روش‌ها برای حفظ کیفیت محصولات باغبانی به شمار می‌رود. کاهش دما می‌تواند سرعت برخی از واکنش‌های متابولیکی که منجر به متلاشی شدن طبیعی و از دست رفتن کیفیت محصولات شود را کاهش دهد. همچنین کاهش دما باعث کم شدن مقدار تنفس، تولید کمتر اتیلن، تاخیر در پیری و نیز تاخیر در رسیدن و پوسیدگی میوه می‌گردد. در برخی موارد دمای پایین از توسعه عوامل پوسیدگی بر روی میوه جلوگیری می‌کند (۱۰). میوه "به" عمر انبارمانی بیش از سه ماه دارد. (۲۲). طبق نتایج یک پژوهش، نگهداری میوه "به" در سردخانه باعث افزایش عمر انباری شده و میزان ضایعات محصول را به نحو چشمگیری کاهش داد. همچنین با تاخیر در زمان برداشت و افزایش مدت نگهداری در سردخانه میزان سفتی بافت کاهش و قهوه‌ای شدن سطحی افزایش یافت (۴۱). کوزوگو و ساکالداس (۳۳) "به" رقم اشمه^۲ را در دمای ۰/۵±۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۵ درصد به مدت شش ماه نگهداری کردند.

با توجه به استانداردهای موجود کدکس بین‌الملل^۳، میوه‌ها بر اساس خصوصیات ظاهری ارزیابی می‌شوند، اما در استانداردهای جدید صفات کیفی داخل میوه نیز مورد توجه قرار گرفته است، چنانچه سوسکا و تومالا (۴۸) اعلام کردند که محتوای مواد جامد محلول و اسیدیته صرف‌نظر از سفتی بافت به دلیل اثرگذاری مستقیم در طعم و مزه میوه نقش مهمی در ارزیابی کیفیت داخلی میوه دارند. در "به" گورتن بیشترین مواد جامد محلول پس از ۱۳۵ روز نگهداری در انبار سرد به دست آمد (۴۱). در میوه گلابی ارقام کوشیا و اسپادونا، برداشت سوم همراه با بیشترین مقدار اسیدیته، مواد جامد محلول و نسبت مواد جامد محلول به اسید قابل تیتراژ بود و در برداشت اول سفتی بافت و اسید قابل تیتراژ^۴ حداکثر مقدار را داشت (۴۰). در پژوهش دیگری که بر روی "به" رقم اشمه انجام شد، میزان کل مواد

1- Total soluble solids (TSS)

2- Esme

3- International codex norms

4- Titrable acid (TA)

5- Pink Lady

6- Pacific Rose

7- Nanguo

توسط چاقو در سه نقطه به اندازه یک سانتی‌متر برداشته شد و فشار گوشت میوه با کلاهک مخصوص اندازه‌گیری شده و نیروی وارده بر حسب نیوتن (کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) ثبت گردید. مواد جامد محلول (TSS): این صفت با استفاده از رفراکتومتر مدل ATAGO N-1α ساخت کشور ژاپن اندازه‌گیری شد. اسیدیته قابل تیتر (TA): این صفت با تیتر کردن توسط سود ۰/۱ نرمال و بر حسب اسید مالیک گزارش شد. TSS/TA: شاخص طعم میوه از تقسیم مواد جامد محلول بر اسید قابل تیتر به دست آمد.

پکتین: مقدار پکتین نمونه‌ها به روش وزنی و با تعیین پکتینات کلسیم اندازه‌گیری شد (۴۹). به این منظور ۲۵ گرم از بافت میوه رنده شد و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بافت رنده شده اضافه گردید. پس از جوشاندن و عبور دادن از صافی، به محلول صاف شده مقدار ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰ میلی‌لیتر سود یک نرمال اضافه شد و محلول حاصل به مدت یک شب در دمای اتاق قرار گرفت. ۵۰ میلی‌لیتر اسید استیک یک نرمال و ۲۵ میلی‌مول کلرید کلسیم به آن اضافه گردید. محلول حاصل جوشانده شده و از کاغذ صافی که قبلاً خشک و وزن شده بود (وزن اولیه) عبور داده شد. کاغذ صافی پس از خشک شدن در آون وزن گردید (وزن ثانویه) و اختلاف وزن اولیه و ثانویه کاغذ صافی به عنوان وزن پکتین و بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شد. محتوای فنول کل: اندازه‌گیری میزان فنول کل آب میوه‌ها با استفاده از روش فولین-سیکالچو^۱ (۴۷) انجام گرفت. ۰/۵ گرم از گوشت میوه جدا شد و در حضور سه میلی‌لیتر متانول ۸۵ درصدی در هاون له گردید. پس از سانتریفیوژ کردن، ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به آن ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین رقیق شده و ۱۲۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم هفت درصد اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۹۰ دقیقه روی شیکر تکان داده شد. جذب نمونه در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتری مدل T80 UV/Visible تعیین گردید. با مقایسه استاندارد گالیک اسید، مجموع فنول به صورت میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تازه بیان شد. درصد پوسیدگی: در هر تکرار معدل پوسیدگی میوه‌ها به صورت مشاهده‌ای ثبت شد.

درصد قهوه‌ای شدن سطحی: سه روز پس از خارج کردن میوه‌ها از انبار و نگهداری آنها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، معدل قهوه‌ای شدن سطحی میوه‌ها یادداشت شد. طرح آماری:

نتایج با استفاده از آزمایش فاکتوریل و بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۰ عدد میوه در هر تکرار برای ژنوتیپ‌های مختلف مورد مقایسه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از

اولین برنامه جمع‌آوری ارقام و ژنوتیپ‌های "به" کشور توسط قاسمی (۲۰) در اصفهان انجام و ۱۴ ژنوتیپ این استان شناسایی و جمع‌آوری شدند که تعدادی از این ژنوتیپ‌ها به صورت رقم معرفی شده و یا در دست معرفی می‌باشند. رقم جدید "به" ویدوجا و ژنوتیپ‌های امید بخش KVD2 و KVD4 از جمله این ارقام و ژنوتیپ‌ها هستند (۲). با توجه به جدید بودن این ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش، ضروری است که مناسب‌ترین زمان برداشت برای آنها بر اساس شاخص‌های موثر برداشت تعیین شود. در مناطق تولید "به" در مهرماه تراکم تولید به وجود می‌آید، بنابراین ذخیره‌سازی محصول مازاد ضروری است (۳۳). در این راستا و با توجه به اینکه استان اصفهان از مهم‌ترین استان‌های تولیدکننده "به" است، به منظور جلوگیری از تراکم عرضه این میوه در اوایل پاییز، ضروری است زمان صحیح برداشت و میزان ماندگاری ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش "به" در سردخانه تعیین گردد تا این ارقام و ژنوتیپ‌ها در زمان مناسب و قبل از دست دادن کیفیت خود از انبار خارج شده و در بازار عرضه گردند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این پژوهش در سال ۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان و ایستگاه تحقیقات مبارکه اجرا شد. آزمایش بر روی میوه‌های "به" رقم ویدوجا و ژنوتیپ‌های KVD2 و KVD4 به عنوان ژنوتیپ‌های امیدبخش و "به" اصفهان به عنوان شاهد که بر روی پایه بذری زالزالک پیوند شده بودند، انجام شد. در فروردین ماه یادداشت‌برداری‌هایی برای تعیین زمان گل‌دهی ارقام و ژنوتیپ‌ها انجام شد و زمانی که ۹۰-۸۵ درصد گل‌ها باز شدند، به عنوان زمان تمام گل برای هر رقم و ژنوتیپ به طور جداگانه ثبت شد تا بتوان زمان برداشت را بر اساس تعداد روز پس از گل‌دهی برای هر رقم گزارش نمود. برداشت میوه در تاریخ‌های ۱۵، ۲۳ و ۳۰ مهر انجام شد. میوه‌های هر رقم و ژنوتیپ به طور تصادفی از سه درخت (سه تکرار) چیده شده و به سردخانه با دمای ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵ درصد منتقل گردیدند. در زمان برداشت و نیز به فواصل هر ماه یکبار و به مدت پنج ماه برخی از خصوصیات کمی و کیفی میوه‌های انبار شده مورد بررسی قرار گرفت.

صفات مورد ارزیابی

درصد کاهش وزن: هر واحد آزمایشی قبل از انتقال به سردخانه توزین شده و پس از طی مدت نگهداری در سردخانه مجدداً وزن گردید. با محاسبه تفاوت وزن اولیه و ثانویه درصد کاهش وزن محاسبه و گزارش گردید.

سفتی بافت: برای تعیین سفتی بافت از دستگاه پترومتر دستی مدل EFFEGI ساخت ایتالیا استفاده شد. به این منظور پوست میوه

نرم افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش LSD انجام گرفت. برای دو صفت درصد قهوه ای شدن سطحی و درصد پوسیدگی نرمال سازی داده ها با فرمول ASIN انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۱ نشان داد که رقم ویدوجا و ژنوتیپ های KVD2 و

جدول ۱- زمان گل دهی ارقام تجاری و ژنوتیپ های امیدبخش درختان به مورد مطالعه
Table 1- Flowering time of quince commercial cultivars and promising genotypes

رقم و ژنوتیپ (Cultivars and genotypes)	فروردین (روز)/ March-April (day)																		
	/7	/8	/9	/10	/11	/12	/13	/14	/15	/16	/17	/18	/19	/20	/21	/22	/23	/24	/25
	27	28	29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Viduja																			
KVD2																			
KVD4																			
Iafahan																			

جدول ۲- میانگین دمای ماهیانه منطقه مورد آزمایش از فروردین تا مهر ۱۳۹۵
Table 2- The average monthly temperature in the region from Farvardin to Mehr 2016

سال Year	April	May	June	July	August	September	August
2016	14.1	20.5	23.6	29.1	27.3	24.8	19

شرایط نگهداری میوه در انبار، تفاوت در میزان عناصر معدنی و نیز اختلاف در نسبت سطح به حجم میوه دانستند.

سطح قندهای قابل حل (ساکارز، فروکتور و گلوکز) که حاصل هیدرولیز نشاسته طی رسیدن است، با مطالعه صفت مواد جامد محلول تعیین می شود (۱۶). برهمکنش اثر رقم و مدت انبارمانی بر این صفت (جدول ۳) نشان داد که در زمان برداشت ارقام ویدوجا (۱۷/۱۱ درصد) و "به" اصفهان (۱۵/۸۸ درصد) مواد جامد محلول بیش تری نسبت به ژنوتیپ های KVD2 (۱۳/۴۴ درصد) و KVD4 (۱۰/۸۸ درصد) داشتند. بیش ترین مقدار این صفت را "به" اصفهان در ماه چهارم انبارمانی (۱۸/۴۴ درصد) و KVD2 در ماه پنجم انبارمانی (۱۸ درصد) نشان دادند. در بین ارقام و ژنوتیپ های مورد مطالعه، افزایش مدت انبارمانی در رقم ویدوجا کم ترین اثر را بر افزایش مواد جامد محلول داشت. افزایش مدت انبارمانی منجر به افزایش مواد جامد محلول شد، اما در مورد "به" اصفهان، مواد جامد محلول در ماه چهارم انبارمانی بیش از ماه پنجم بود. به نظر می رسد افزایش تنفس و مصرف مواد ذخیره ای در ماه آخر به کم شدن مواد جامد محلول انجامیده است. خوش قلب و همکاران (۲۹) نشان دادند که گلابی آسیایی در زمان برداشت دارای مقادیر زیادی ساکارز بود که پس از انبارمانی، ساکارز

اثر رقم و مدت انبارمانی بر درصد کاهش وزن در جدول ۳ آورده شده است. بیش ترین کاهش وزن در ماه پنجم انبارمانی دیده شد. در این ماه "به" اصفهان بیش ترین درصد کاهش وزن را با میانگین ۱۵/۹ درصد نشان داد. پس از آن ژنوتیپ های KVD2، KVD4 و رقم ویدوجا قرار گرفتند، به طوری که ویدوجا با کاهش وزن ۸/۴۱ درصدی نسبت به سایر ارقام و ژنوتیپ ها در این ماه کاهش وزن کمتری را نشان داد. کم ترین میزان کاهش وزن در یک ماه پس از انبارمانی دیده شد. آب زدست دهی در طی دوره انبارمانی منجر به کاهش وزن میوه می شود و کاهش وزن نیز بر ظاهر میوه تاثیر منفی دارد (۴۳). پژوهش های دیگری نیز به افزایش آب زدست دهی و کاهش وزن میوه با افزایش مدت انبارمانی اشاره کرده اند. به عنوان مثال با افزایش مدت نگهداری در سردخانه میزان کاهش وزن میوه "به" رقم گورتن افزایش یافت (۴۱). کاهش وزن گلابی رقم پر کوچه- دی فیورانو^۱ که به مدت دو و سه ماه در انبار سرد نگه داری شده بود به ترتیب ۳/۶ و ۶ درصد بود. میزان کاهش وزن بین ارقام و ژنوتیپ های مورد مطالعه در این تحقیق متفاوت بود. بوردون و کلارک (۱۱) اختلاف در میزان کاهش وزن بین ارقام مختلف را ناشی از اختلاف در

رقم یالی سفتی بافت میوه در زمان انبارداری، طی روند یکنواختی کاهش یافت (۱۲). سفتی و بافت میوه به ساختمان و ترکیب دیواره سلولی بستگی دارد (۵۰). پیشرفت رسیدگی، بلوغ و پیری میوه منجر به حل شدن تیغه میانی و از بین رفتن انسجام دیواره سلولی شده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده افزایش یافته و سبب کاهش سفتی بافت میوه می‌شود. در این حالت میزان حساسیت میوه به نابسامانی‌های پس از برداشت بستگی به میزان بلوغ میوه در زمان برداشت دارد (۴۴). از طرف دیگر خاصیت پلی‌ساکاریدی بودن ساکارز نیز باعث سفتی بافت میوه می‌شود. در طی انبار سرد، میوه‌های فرازگرا به رسیدن ادامه می‌دهند و تغییرات گسترده‌ای توسط آنزیم‌ها در پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی ایجاد می‌شود و ساکارز به قندهای ساده‌تر تبدیل می‌شود. به این ترتیب با رسیدن میوه میزان ساکارز و نیز سفتی بافت میوه کاهش می‌یابد (۲۳). همان‌گونه که اشاره شد، میوه ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای سفتی متفاوتی بودند. در سایر پژوهش‌ها نیز اختلاف در سفتی بافت ارقام مختلف میوه گزارش شده است. به عنوان مثال بافت میوه رقم رد‌دلیشز به مراتب سفت‌تر از میوه رقم گل‌دن‌دلیشز بود. سفتی بافت میوه رقم گل‌شاهی نیز نسبت به ارقام رد‌دلیشز، گل‌دن‌دلیشز و عباسی در منطقه خراسان بیشتر بود (۲۶).

مقدار پکتین در زمان برداشت ژنوتیپ KVD4 بیش‌ترین مقدار بود که اختلاف معنی‌داری با مقدار پکتین در زمان برداشت "به" اصفهان نداشت. کلیه ارقام و ژنوتیپ‌ها در ماه پنجم انبارمانی مقدار پکتین خود را کاهش داده و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (جدول ۳). طبق گزارش مشرف و قاسمی (۳۹) افزایش دوره انبارداری مقدار پکتین در میوه‌های "به" اصفهان را کاهش داد، به طوری‌که محتوای پکتین قبل از انبار ۲/۵ گرم در ۱۰۰ گرم و در آخرین برداشت و پنج ماه ماندگاری در انبار ۱/۲۷ گرم در ۱۰۰ گرم بود. مقدار پکتین گزارش شده توسط ایشان بیش از مقادیر مشاهده شده در پژوهش حاضر است که علت آن می‌تواند اختلاف در شرایط محل پرورش این درختان باشد. به طور مشابه در پژوهش انجام شده بر روی سیب رقم آیدارد^۱ نیز طی پنج ماه انبارمانی تغییراتی در میزان پکتین میوه اتفاق افتاد و به میزان ۱۵-۱۲ درصد کاهش یافت. این میزان کاهش از میزان کاهش در این پژوهش و نیز مقادیر گزارش شده در ارقام جوناگلد و گل‌دن‌دلیشز کمتر بود (۳۱).

بیش‌ترین محتوای فنول کل متعلق به ژنوتیپ KVD4 و در زمان برداشت بود. کم‌ترین مقدار فنول کل برای "به" اصفهان، ویدوجا و ژنوتیپ KVD2 پس از پنج ماه انبارمانی ثبت شد. در این زمان این سه رقم و ژنوتیپ اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۳). افزایش مدت انبارمانی منجر به کاهش محتوای

به قندهای ساده‌تر تبدیل شده و درصد مواد جامد محلول افزایش پیدا کرد. گزارش شده که افزایش مواد جامد محلول در زمان انبارداری فقط مربوط به افزوده شدن قند نیست، بلکه به افزایش و کاهش مواد دیگری مانند اسیدها، پکتین‌های محلول و ترکیبات فنولی نیز بستگی دارد (۴). مشرف و قاسمی (۳۹) مواد جامد محلول در منطقه فلاورجان برای "به" اصفهان را که پنج ماه در انبار سرد نگهداری شده بود، ۱۶/۲۰ درصد و در زمان برداشت ۱۴/۷۵ درصد گزارش کردند که کمتر از مقادیر گزارش شده در پژوهش حاضر بود. کمبود آب در سال‌های اخیر در ایستگاه تحقیقات مبارکه که منجر به افزایش غلظت شیره سلولی در بافت‌ها می‌گردد، می‌تواند علت اختلاف این صفت در "به" اصفهان باشد. در همین راستا، گزارش شده که افزایش TSS اثر تجمع مواد جامد محلول و کاهش رطوبت اتفاق می‌افتد (۱۷).

بیش‌ترین اسید قابل‌تیتیر در زمان برداشت ژنوتیپ KVD4 دیده شد. مقدار این صفت در ژنوتیپ KVD4 حتی پس از پنج ماه ماندگاری در انبار بیش از مقدار اسید قابل‌تیتیر در میوه‌های سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها بود (جدول ۳). کمترین مقدار اسید قابل‌تیتیر در میوه‌های "به" اصفهان و سپس "به" ویدوجا در ماه پنجم انبارمانی دیده شد. به طور کلی با افزایش میزان رسیدگی و طولانی شدن دوره انبارمانی میزان اسیدهای قابل‌تیتیر کاهش یافت. اسیدهای آلی در شروع رشد و نمو میوه حجم بالایی از میوه را به خود اختصاص می‌دهند، لذا میوه‌ها تا قبل از رسیدن و به دلیل وجود اسیدهای آلی، pH بالایی دارند، اما با رسیدن میوه بیشتر اسیدهای آلی تجزیه و یا تبدیل به اسیدهای آلی دیگر و یا قندها شده و موجب افزایش شیرینی میوه می‌شوند (۲۷). اختلاف در میزان اسیدهای قابل‌تیتیر بین ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف به ویژه بین KVD4 با سایر ارقام قابل‌توجه بود. محققان دیگری نیز اختلاف در میزان اسید قابل‌تیتیر بین ارقام و زمان‌های مختلف انبارمانی را گزارش کرده‌اند (۲۱ و ۳۹).

نسبت TSS به TA فاکتور کیفی مهمی است که تعیین‌کننده طعم میوه می‌باشد (۵۱). بیش‌ترین شاخص طعم در "به" اصفهان و ویدوجا پس از انبارمانی پنج ماهه دیده شد. "به" ویدوجا پس از چهار ماه ماندگاری در انبار در رتبه بعدی قرار گرفت. کم‌ترین شاخص طعم نیز به زمان برداشت در ژنوتیپ KVD4 مربوط بود (جدول ۳). به طور کلی افزایش مدت انبارمانی به افزایش شاخص طعم منجر شد. به طور مشابه شاخص طعم در طی انبارداری میوه‌های کیوی رقم هیوارد به طور معنی‌داری افزایش یافت (۷).

مطابق جدول ۳، بیش‌ترین سفتی بافت میوه در زمان برداشت دیده شد. نوع رقم تاثیر معناداری بر میزان سفتی بافت میوه داشت، به طوری‌که سفت‌ترین بافت متعلق به "به" اصفهان و KVD2 در زمان برداشت بود. کمترین سفتی بافت میوه مربوط به ژنوتیپ KVD4 پس از پنج ماه انبارمانی بود. به طور کلی انبارمانی طولانی‌تر میزان سفتی بافت میوه را کاهش داد. به طور مشابه در میوه گلابی

فنول در کلیه ارقام و ژنوتیپ‌ها شد. در همین راستا محققان دیگری در انبار به تدریج کاهش یافت (۶ و ۷). نیز نشان دادند که میزان فنول کل با نگهداری طولانی مدت میوه‌ها

جدول ۳- اثر متقابل رقم، زمان برداشت و مدت انبارمانی بر مواد جامد محلول، سفتی بافت و فنول کل میوه برخی از ارقام تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش به

Table 3- Mean comparison of cultivar, storage time and harvesting time on TSS, firmness and total phenol in the fruit of some commercial quince cultivars and promising genotypes

رقم Cultivar	مدت انبارمانی Storage time	کاهش وزن Weight loss (%)	مواد جامد محلول TSS (%)	اسید قابل تیتر TA (%)	شاخص طعم TSS/TA	سفتی بافت Firmness (kg/cm ²)	پکتین Pectin (g/100g)	فنول کل Total phenol (mg/100gFW)
Isfahan	At harvesting time	0m	15.88gh	0.65ijk	24.94g-j	9.68a	0.29abc	101.56c
	1	3.8hij	16fgh	0.56klm	30.16d-g	8.92b	0.13f-i	79.99d
	2	5.15ghi	17.11cde	0.51mno	35.66d	7.94d	0.26bcd	68.89e
	3	8.8e	17.88abc	0.42opq	43.53c	6.78f	0.08h-k	50.19h
	4	12.44bc	18.44a	0.43nop	45.2bc	5.78g	0.05jk	32.17k
	5	15.9a	16.77ef	0.32q	55.18a	5.01h	0.04k	17.96m
KVD4	At harvesting time	0m	10.88k	2.03a	5.38n	8.21cd	0.34a	117.91a
	1	2.04jkl	11.66k	1.53b	7.77mn	6.74f	0.23cde	109.55b
	2	3.9hij	12.55j	1.45bc	8.91lmn	5.81g	0.14fgh	101.20c
	3	6.7fg	12.77ij	1.37c	9.35lmn	4.51i	0.16efg	83.84d
	4	9.15de	12.88ij	1.17d	11.22lmn	3.24j	0.06ijk	59.90f
	5	10.74cd	13.44i	1e	13.71klm	2.12k	0.04k	49.14hi
KVD2	At harvesting time	0m	13.44i	0.94ef	14.37kl	9.46a	0.32ab	64.56e
	1	1.44lm	15.77h	0.85fg	19.32jk	8.52bc	0.17efg	57.18fg
	2	4.97ghi	16.66efg	0.76gh	22.22ij	7.46e	0.12f-j	49.34hi
	3	7.48ef	17de	0.71hi	24.46g-j	6.58f	0.10g-k	39.76j
	4	8.95de	17.44b-e	0.66h-k	27.35f-i	5.75g	0.08h-k	26.56l
	5	13.01b	18ab	0.58j-m	31.56def	4.97h	0.03k	18.07m
Viduja	At harvesting time	0m	17.11cde	0.72hi	24.14hij	8.66bc	0.25bcd	54.86g
	1	1.68klm	17.15cde	0.67hij	25.35ghi	7.87de	0.19def	54.85g
	2	3.34ijk	17de	0.62j-m	29.2efgh	6.8f	0.13f-i	44.90i
	3	5.54gh	17.33b-e	0.35lmn	33.73de	5.72g	0.10g-k	37.76j
	4	6.72fg	17.44b-e	0.38pq	50.82ab	4.65hi	0.06ijk	27.49l
	5	8.41ef	17.66a-d	0.35pq	53.66a	3.54j	0.04k	16.29m

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant difference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

طبق جدول ۴، میوه‌هایی که در نوبت سوم برداشت شده بودند، نسبت به سایر زمان‌های برداشت، شاخص طعم بیشتری داشتند. بیشترین شاخص طعم در برداشت سوم و ماه پنجم انبارمانی دیده شد. در زمان سومین و دومین برداشت مقدار فنول کل بیش‌ترین مقدار بود. برداشت اول و انبارمانی پنج ماهه کمترین مقدار فنول کل را به خود اختصاص داد (جدول ۴). میزان فنول میوه‌ها و سبزی‌ها پس از برداشت می‌تواند کاهش یا افزایش یابد که بستگی زیادی به زمان برداشت و شرایط انبار دارد (۲۸).

اثر متقابل زمان برداشت و مدت انبارمانی بر مواد جامد محلول در جدول ۴ آورده شده است. بیش‌ترین مواد جامد محلول در برداشت سوم و ماه پنجم و چهارم انبارمانی دیده شد. زمان‌های برداشت اول و دوم نیز کمترین مواد جامد محلول را به خود اختصاص دادند. مواد جامد محلول در میوه‌های سیب رقم فوجی^۱ نیز تحت تاثیر مدت انبارمانی و تاریخ برداشت قرار گرفتند و با افزایش مدت انبارمانی و تاریخ برداشت، مقدار TSS با تبدیل نشاسته به قندها افزایش یافت (۳۸).

جدول ۴- اثر متقابل رقم × زمان برداشت × مدت انبارمانی بر مواد جامد محلول، سفتی بافت و فنول کل میوه برخی از ارقام تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش به

Table 4- Mean comparison of cultivar, storage time and harvesting time on TSS, firmness and total phenol in the fruit of some commercial quince cultivars and promising genotypes

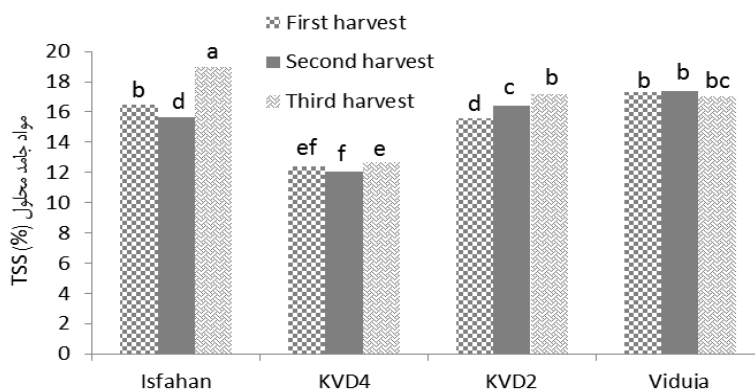
زمان برداشت Harvesting time	مدت انبارمانی Storage time	مواد جامد محلول TSS (%)	شاخص طعم TSS/TA	فنول کل Total phenol (mg/100gFW)
1	At harvesting time	14g	15.09i	77.38bc
	1	14.5fg	17.29h	66.79e
	2	15.41de	18.68hi	51.66g
	3	15.91cd	22.84fgh	35.95i
	4	16cd	26.22ef	21.86k
2	5	16.75b	31.81cd	15.38l
	At harvesting time	14g	16.57i	87.57a
	1	15.08ef	19.6hi	78.6b
	2	15.66de	22.48fgh	72.76d
	3	15.91cd	27.36def	60.52f
3	4	16.5bc	30.64cde	42.51h
	5	15.1ef	33.87c	27.39j
	At harvesting time	15ef	19.95ghi	89.22a
	1	15.66de	25.06fg	80.79b
	2	16.41bc	30.83cde	73.83cd
	3	16.91ab	33.10c	62.20f
	4	17.16a	44.09b	45.22h
	5	17.5a	49.9a	33.34i

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant difference at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

محلول بین دو رقم سیب شفیع‌آبادی و گلاب کهیز را معنی‌دار و به ترتیب ۱۱/۱ و ۸/۷۵ درصد گزارش کردند و این اختلاف در میزان مواد جامد محلول در این دو رقم سیب را ناشی از اختلاف ژنتیکی بین آنها و اثر شرایط محیطی که این ارقام در آن رشد کرده‌اند، دانستند. در پژوهش حاضر اختلاف بین ارقام و ژنوتیپ‌ها علاوه بر تفاوت‌های ژنتیکی می‌تواند در اثر منشا متفاوت این گیاهان باشد.

درصد مواد جامد محلول در "به" اصفهان و KVD2 در برداشت سوم بیش‌ترین مقدار بود، اما برداشت سوم در "به" ویدوجا و KVD4، افزایش معنی‌داری نسبت به زمان‌های برداشت قبلی نداشت (شکل ۱). میزان مواد جامد محلول بین ارقام نیز اختلاف قابل توجهی داشت. به طوری که "به" اصفهان بیش‌ترین و KVD4 کم‌ترین مقدار TSS را داشت. گرجی چاکسپاری و مبلی (۲۱) نیز اختلاف بین مواد جامد

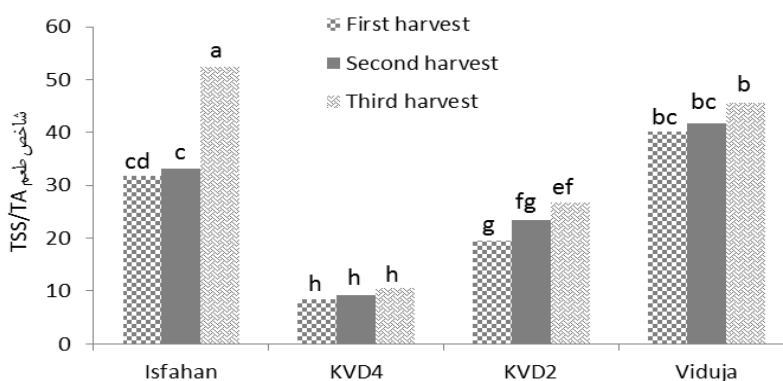


شکل ۱- اثر متقابل رقم × زمان برداشت بر درصد مواد جامد محلول میوه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 1- Interaction effects of cultivar × harvesting time on TSS percentage in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

اصفهان، ویدوجا، KVD2 و KVD4 کاهش یافت (شکل ۲). با توجه به اینکه شاخص طعم نسبت بین مواد جامد محلول و اسید قابل تیتر است و با مواد جامد محلول نسبت مستقیم دارد، حصول این نتیجه منطقی می‌باشد.

”به“ اصفهان در برداشت سوم و سپس ”به“ ویدوجا در برداشت سوم بیش‌ترین شاخص طعم را داشتند. شاخص طعم در ”به“ ویدوجا و ژنوتیپ KVD4 اختلاف معنی‌داری را بین زمان‌های مختلف برداشت نشان نداد. به طور کلی شاخص طعم به ترتیب در ”به“

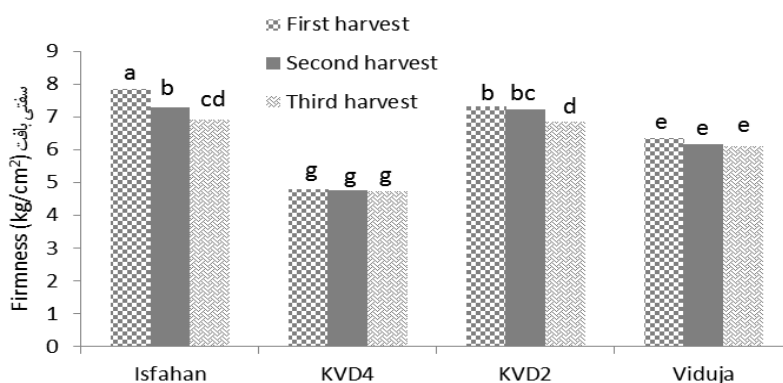


شکل ۲- اثر متقابل رقم × زمان برداشت بر شاخص طعم میوه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 2- Interaction effects of cultivar ×harvesting time on TSS/TA in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

سفتی بافت میوه در برداشت سوم به سرعت کاهش یافت و پس از گذشت شش ماه به سه کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع رسید (۳۳). اثر زمان برداشت در سفتی بافت میوه پس از انبارمانی توسط کونوپاکا و پلوچارسکی (۳۰) نیز گزارش شده است.

سفتی بافت میوه کلیه ارقام و ژنوتیپ‌ها در برداشت سوم کمتر از زمان‌های برداشت قبلی بود، اما در ”به“ ویدوجا و ژنوتیپ KVD4 این کاهش سفتی بافت در برداشت سوم اختلاف معنی‌داری با برداشت‌های قبل از آن نداشت (شکل ۳). در میوه ”به“ رقم اشمه

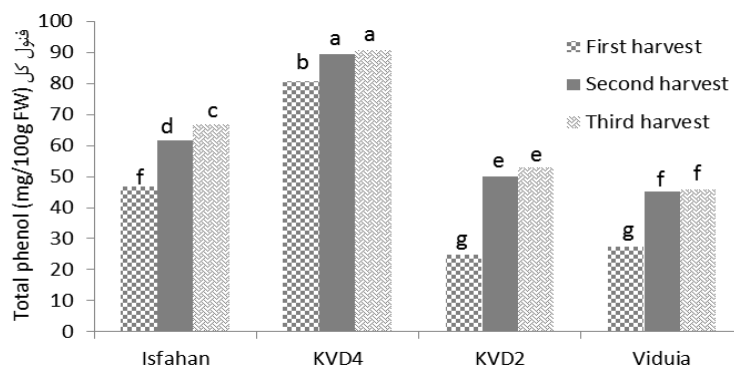


شکل ۳- اثر متقابل رقم × زمان برداشت بر سفتی بافت میوه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 3- Interaction effect of cultivar ×harvesting time on fruit firmness in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

از آنزیم‌های اصلی در ساخت ترکیبات فنولی است، به نحوی که افزایش یا کاهش در ترکیبات فنولی می‌تواند مرتبط با افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمینولیز باشد (۳۵).

با تاخیر در زمان برداشت در کلیه ارقام و ژنوتیپ‌ها، مقدار فنول افزایش یافت. به طور کلی ژنوتیپ KVD4، بیش‌ترین و ویدوجا کمترین محتوای فنول را داشت (شکل ۴). آنزیم فنیل آلانین آمینولیز



شکل ۴- اثر متقابل رقم × زمان برداشت بر محتوای فنل کل میوه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

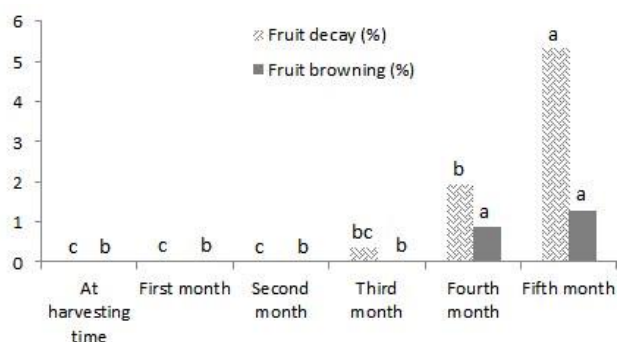
Figure 4- Interaction effect of cultivar ×harvesting time on total phenol in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

شده در آنها مربوط است.

با طولانی شدن مدت انبارمانی، مقدار پوسیدگی نیز افزایش یافت. اولین پوسیدگی‌ها از ماه سوم انبارمانی دیده شد و در ماه پنجم به بیش‌ترین مقدار خود رسید (شکل ۵). طبق شکل ۶، "به" اصفهان بیش‌ترین درصد پوسیدگی را به خود اختصاص داد. سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در درصد پوسیدگی با یکدیگر نداشتند. بررسی ظاهری و عمومی میوه ژنوتیپ‌های "به" مناطق مختلف کشور نشان داده که میوه‌های تولید شده در مناطق مرطوب‌تر دارای عارضه‌های بیش‌تری از قبیل پوسیدگی‌ها، بروز زنگار و یا بدفرمی‌های میوه می‌باشند، درحالی که میوه‌های "به" تولید شده در مناطق خشک‌تر دارای پوست صاف‌تر بوده و بازارپسندی بیش‌تری نسبت به "به"‌های مناطق پربارش‌تر کشور دارند. این نکته بیانگر انطباق بیش‌تر درخت "به" با مناطق کم ارتفاع و دارای آب و هوای نیمه خشک است (۱). در این میان شرایط انبار نیز حائز اهمیت است.

با تاخیر در زمان برداشت، مقدار اسید قابل تیتر کاهش یافت (شکل ۷). اسید قابل تیتر در میوه‌ها وابسته به مقدار متابولیسم به ویژه تنفس است که اسیدهای آلی را مصرف می‌کند و گذر زمان منجر به کاهش آن می‌شود (۱۹). کاهش اسیدهای آلی با طولانی شدن تاریخ برداشت توسط مشرف و قاسمی (۳۹) و محبی و همکاران (۳۸) نیز گزارش شده است. مقدار پکتین در برداشت اول و دوم اختلاف معنی‌داری نداشت، اما مقدار آن در برداشت سوم کاهش یافت (شکل ۷). طبق گزارش مشرف و قاسمی (۳۹) محتوای پکتین در تاریخ‌های مختلف برداشت "به" اصفهان اختلاف معنی‌داری نداشت که با نتایج این تحقیق هم‌سو نبود. پکتین فراوان‌ترین پلیمر موجود در تیغه میانی غشای سلولی است و چسبندگی بین سلول‌ها را کنترل می‌کند. غشای سلولی میوه‌های نارس غنی از پکتین است، اما در طی رسیدن میوه، پکتین بیش‌ترین تغییر را می‌کند (۴۲).

در تحقیق حاضر درصد قهوه‌ای شدن سطحی تحت تاثیر ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نبود و مدت انبارمانی بر روی این عارضه اثر معنی‌داری داشت (شکل ۵). تا ماه سوم انبارمانی، هیچ‌گونه قهوه‌ای شدن سطحی مشاهده نشد و شروع این عارضه از ماه چهارم آغاز گردید. بیش‌ترین قهوه‌ای شدن در ماه پنجم انبارمانی دیده شد. گزارش شده که انبارمانی طولانی‌مدت و دماهای کمتر از 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد در انبار، میزان قهوه‌ای شدن و از دست‌دهی کیفیت محصول را افزایش می‌دهد (۹ و ۳۶). بر خلاف یافته‌های این تحقیق، در بررسی ظاهری میوه ژنوتیپ‌های "به" در کلکسیون "به" کشور توسط عبداللهی (۱)، قهوه‌ای شدن سطحی پس از دو ماه انبارمانی در برخی از میوه‌ها مشاهده شد. بر اساس این گزارش طی ماه‌های اول ۲۰ تا ۳۰ درصد محصول و پس از گذشت چند ماه، در صورتی که میوه‌های بیش‌رس جدا نشوند، بیش از ۶۰ تا ۷۰ درصد محصول دچار عارضه قهوه‌ای شدن می‌شوند. خوش‌قلب و همکاران (۲۹) گزارش کردند که افزایش میزان قندها و اسیدهای آلی باعث تاخیر در قهوه‌ای شدن میوه می‌شوند. بر این اساس بالاتر بودن میزان مواد جامد محلول در ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌تواند باعث تاخیر در قهوه‌ای شدن در این تحقیق باشد. به طور کلی حساسیت ارقام مورد مطالعه به عارضه قهوه‌ای شدن سطحی ناچیز و غیرمعنی‌دار بود. درحالی‌که گزارش‌هایی مبنی بر اختلاف بین ارقام و زمان‌های مختلف برداشت در میزان قهوه‌ای شدن سطحی وجود دارد. به عنوان مثال، قهوه‌ای شدن سطحی در برداشت سوم میوه "به" رقم اشمه بیش از برداشت‌های قبلی بود و در نهایت به ۷۰ درصد رسید (۳۳). در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی توسط عبداللهی (۱) نیز تفاوت‌های قابل توجهی در میزان و شدت بروز این عارضه در انبار وجود داشت، به‌طوری‌که دو ژنوتیپ "به" SVS1 و SVS2 از منطقه فلاورجان اصفهان حساسیت بسیار زیادی به این عارضه نشان دادند. حساسیت ارقام مختلف نسبت به قهوه‌ای شدن به مقدار ترکیبات فنولی تخریب

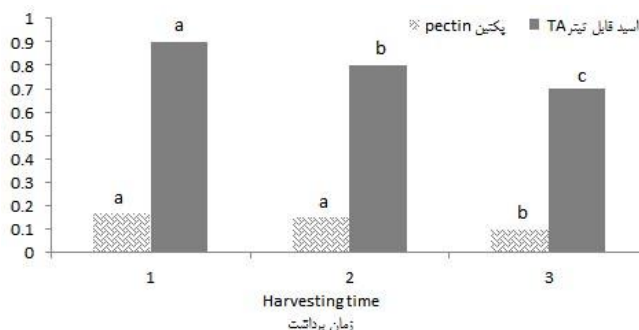


شکل ۵- اثر مدت انبارمانی بر درصد پوسیدگی و قهوه‌ای شدن

میوه برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 5- Effect of storage time on fruit decay and browning in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

برخی گزارش‌ها ثابت کردند که میوه‌های برداشت شده در مرحله نمودی مناسب دچار کاهش وزن کمتری در مقایسه با میوه‌های خیلی زود یا خیلی دیر برداشت شده در دوره نگهداری در انبار خواهد شد (۱۴).

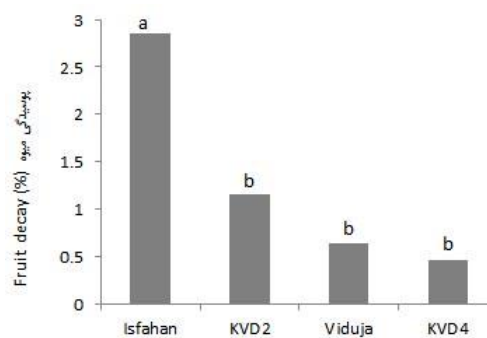


شکل ۷- اثر زمان برداشت بر اسید قابل تیتر و پکتین میوه برخی از

ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 7- Effect of harvesting time on TA and pectin in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

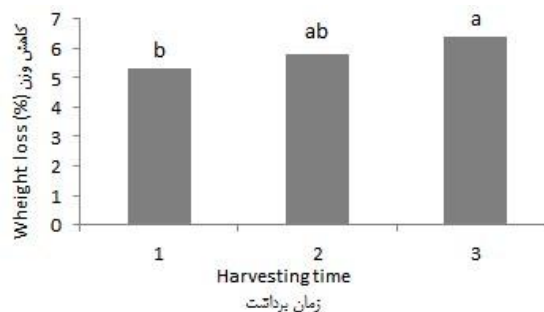
تازه‌خوری است. در این زمان می‌توان از این رقم به عنوان “به” نوبرانه نیز استفاده نمود. برای سایر ارقام سومین برداشت یعنی برداشت در ۳۰ مهرماه مطلوب‌تر از سایر زمان‌ها بود. با توجه به زمان تمام گل برای هر رقم می‌توان گفت که برای ژنوتیپ‌های KVD2 و KVD4 ۲۰۰ روز پس از تمام گل مناسب‌ترین زمان برداشت است. برای رقم “به” اصفهان نیز ۱۹۳ روز پس از برداشت به عنوان زمان مناسب برداشت قابل توصیه است. محققان دیگری نیز از تعداد روز پس از تمام گل برای زمان مناسب برداشت ارقام مختلف “به” در مناطق مختلف استفاده کرده‌اند. به عنوان مثال نیکخواه و گنجی



شکل ۶- درصد پوسیدگی میوه در برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های به

Figure 6- Effect of cultivar on fruit decay percentage in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

بررسی اثر زمان برداشت بر درصد کاهش وزن میوه (شکل ۸) نشان داد که تاخیر در زمان برداشت، کاهش وزن میوه بیش‌تری را به دنبال دارد. در تایید این موضوع، نتایج پژوهش دیگری نشان داد که کاهش وزن میوه “به” رقم اشمه پس از شش ماه انبارمانی در برداشت اول، دوم و سوم به ترتیب ۹، ۱۰/۵ و ۱۱/۵ درصد بود (۳۳).



شکل ۸- اثر زمان برداشت بر درصد کاهش وزن میوه برخی از ارقام و

ژنوتیپ‌های به

Figure 8- Effect of harvesting time on weight loss in the fruit of some quince cultivars and genotypes (DMRT, $p \leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج ذکر شده و بررسی میزان مواد جامد محلول، اسید قابل تیتر و خواص چشایی ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و نیز با توجه به اینکه تعداد روز پس از تمام گل به عنوان شاخص مهمی جهت تعیین رسیدگی میوه‌ها مطرح است، بهترین زمان برداشت برای رقم ویدوجا، اولین برداشت است که به طور متوسط ۱۸۵ روز پس از تمام گل می‌باشد. این رقم در این زمان از میزان مواد جامد محلول و شاخص طعم مطلوبی برخوردار بوده و مناسب برای

میوه ارقام و ژنوتیپ‌های "به" ویدوجا و اصفهان و KVD4 ماندگاری بیش از چهار ماه در انبار با شرایط پروژه حاضر توصیه نمی‌شود. "به" ویدوجا در این زمان از سفتی مطلوبی برخوردار بود. "به" اصفهان نیز در این زمان وزن کمتری را از دست داد و شاخص طعم و سفتی مناسبی داشت ژنوتیپ KVD2 قابلیت نگهداری پنج ماهه در انبار را دارد، زیرا نه تنها در طول این مدت صفات کیفی میوه در حد مطلوب حفظ شد، بلکه کمترین خسارت و ضایعات در میوه مشاهده گردید. با توجه به پایین بودن شاخص طعم در اثر کم بودن مواد جامد محلول و بالا بودن میزان اسید قابل تیتر و نیز زیاد بودن مقادیر پکتین و فنول کل در ژنوتیپ KVD4، این ژنوتیپ برای استفاده در صنایع تبدیلی قابل توصیه است.

مقدم (۴۱) مناسب‌ترین زمان برداشت "به" رقم گورتن را در مشهد دهه دوم مهر ماه یعنی ۱۹۱ روز بعد از مرحله تمام گل اعلام کردند. مشرف و قاسمی (۳۹) نیز بهترین زمان برای برداشت "به" اصفهان را ۱۸۰ روز پس از گل‌دهی و مطلوب‌ترین طول دوره نگهداری این میوه در انبار را پنج ماه گزارش کردند.

با وجودی که ارقام مورد مطالعه با ماندن بیشتر در انبار شاخص برداشت بالاتری را نشان دادند، اما برخی از آنها در ماه آخر انبار نرم شده و طعم نامطلوب به خود گرفتند. ارقام و ژنوتیپ‌های ویدوجا، اصفهان و KVD4 در ماه پنجم انبارمانی عطر و طعم واقعی خود را از دست داده و طعم نامطلوب ناشی از ماندگاری در انبار را نشان دادند، اما KVD2 در این زمان مواد جامد محلول بالایی داشت، عطر و طعم خود را حفظ کرد و طعم نامطلوب انبار را به خود نگرفت، لذا برای

منابع

- 1- Abdollahi H. 2012. Evaluation of productive and vegetative traits and compatibility of new cultivars and genotypes of quince. Final Report of Research Project. Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran 165p. (in Persian with English abstract)
- 2- Alipour M., Abdollahi H., Abdousi V., Ghasemi A., Adli M., and Mohammadi M. 2014. Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distinctness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. Seed and Plant Improvement Journal, 3: 507-529.
- 3- Amiot M.J., Tacchini M., Aubert S., and Nicolas J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. Food Science, 57: 958-962.
- 4- Amodio M.L., Colelli G., Hasey J.K., and Kader A.A. 2007. A comparative study of composition and postharvest performance of organically and conventionally grown kiwifruits. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 1228-1236.
- 5- Angelov T. 1975. Studies on fruit respiration in some quince cultivars with reference to determining the optimal harvesting date. Gradinarska i Lozarska Nauka, 12: 11-18.
- 6- Ardekani E., Davari Nezhad G.H., and Azizi M. 2013. Effect of foliar application of salicylic acid before harvest on shelf life, quality in post harvest and antioxidant activity in apricot cv. Nouri. Journal of Horticultural Science, 26: 448-459. (in Persian with English abstract)
- 7- Ashour Nezhad M., Ghasemnezhad M., Aghajanzadeh S., Fattahi Moghadam J., and Bakhshi D. 2013. Evaluation of storage life and postharvest quality of kiwifruit cv, 'Hayward' fruits produced in conventional and organic agricultural systems. Journal of Agricultural Science and Sustainable production, 22: 1-12. (in Persian with English abstract).
- 8- Awad M.A., and De Jager A. 2000. Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of 'Elstar' and 'Jonagold' apples during and after regular and ultra low oxygen storage. Postharvest Biology and Technology, 20: 15-24.
- 9- Ayfer M., Koksall A., Celik M., Kaynak L., and Turk R. 1983. Researches on the cold storage conditions of the quince. Symposium of the storage, market preparation and delivery of the products in Turkey. TUBITAK, p. 48-57.
- 10- Brown B.I. 1989. Temperature management and chilling injury of tropical and subtropical fruit. Acta Horticulturae, 175: 339-342.
- 11- Burdon J., and Clark C. 2001. Effect of postharvest water loss on 'Hayward' kiwifruit water status. Postharvest Biology and Technology, 22: 215-225.
- 12- Chen J.L., Yan S., Feng Z., Xiao L., and Hu X. S. 2006. Changes in the volatile compounds and chemical and physical properties of 'Yali' pear (*Pyrus bertschneideri* Rehd) during storage. Food Chemistry, 97: 248-255.
- 13- Crisosto C.H., Garner D., and Saez K. 1999. Kiwifruit Postharvest Quality Maintenance Guidelines. Central Valley Post harvest Newsletter, 8: 1-11.
- 14- Elgar H.J., Watkins C.B., and Lalu N. 1999. Harvest date and crop load effects on a carbon dioxidelated storage injury of 'Braeburn' apple. Horticultural Science, 2: 305-309.
- 15- Eshghi M., Hajnajari H., Kalantari S., Damyar S., and Rasouli V. 2011. Changes in physical and biochemical traits in native summer-ripening apple cultivars during cold storage. Journal of Agricultural Engineering Research, 1: 59-70. (in Persian with English abstract)
- 16- Etienne A., Genard M., Lobit P., Mbeguie-A-Mbeguie D., and Bugaud C. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. Journal of Experimental and Botany, 64: 1451-1469.

- 17- Farooq R.A., and Khan I. 2012. Physico- chemical quality of apple cv. Gala fruit stored at low temprature. FUUAST Journal of Biology, 2: 103-107.
- 18- Franck C., Lammertyn J., Ho Q.T., Verboven P., Verlinden B., and Nicolai B.M. 2007. Browning disorders in pear fruit. Postharvest Biology and Technology, 43: 1-13.
- 19- Ghafir S., Gadalla S., Murajei B., and El-Nady M. 2009. Physiological and anatomical comparison between four different apple cultivars under cold-storage conditions. African Journal of Plant Science, 3: 133-138.
- 20- Ghasemi A. 2002. Collection and identification of different quince genotype (*Cydonia oblonga* Mill.) in Isfahan province. Final Report of Research Project. Agriculture and Natural Resources Research Center of Isfahan, Iran 123p. (in Persian with English abstract)
- 21- Gorji Chakespari A., and Mobli H. 2010. Post harvest physical and nutritional properties of two apple varieties. Journal of Agricultural Science, 2:61-68.
- 22- Gunes N.T., Dumanoglu H., and Poyrazoglu E.S. 2012. Use of 1-MCP for keeping postharvest quality ok Ekmek quince fruit. Acta Horticulturae, 1: 297-302.
- 23- Halinska A., and Frenkel C. 1991. Acetaldehyde stimulation of net gluconeogenic carbonmovement from applied malic acid in tomato fruit pericarp tissue. Plant Physiology, 3: 954-960.
- 24- Harker F.R., Feng J., Johnston J.W., Gamble J., Alavi M., Hall M., and Chheang S.L. 2019. Influence of post-harvest water loss on apple quality: The use of a sensory panel to verify destructive and non-destructive instrumental measurements of texture. Postharvest Biology and Technology, 148: 32-37.
- 25- Harker F.R., Redgwell R.J., Hallet I.C., Murray S., and Carter G. 1997. Texture of freshfruit. Horticultural Review, 20: 212-224.
- 26- Hoseini Farahi M., Aboutalebi A., and Panahi Kord Laghari K.H. 2008. Study on fruit firmness changes in Golden and Golden Delicious apple cultivars, post harvest in attention to rootstock type, cultivar and calcium chloride treatment. Journal of Agronomy and Horticulturae (Pajouhesh and Sazandegi), 1: 74-79.
- 27- Hudina M., and Stampar F. 2004. Free sugar and sorbitol content in pear (*Pyrus communis* L.) cv. Williams during fruit development using different treatment. Acta Horticulturae, 576: 279-288.
- 28- Kalt W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. Journal of Food Science, 70: 11-19.
- 29- Khosh Ghalb H., Arzani K., Malakouti M.J., and Barzegar M. 2008. Changes of sugars and organic acids contents in two Asian pear cultivars (*Pyrus serotina* Rehd.) during fruit development and postharvest storage and its effect on fruit shelf life, quality and internal browning disorder. Journal of Water and Soil Science, 12:193-204. (in Persian with English abstract)
- 30- Konopacka D., and Plocharski W.J. 2002. Effect of picking maturity, storage technology and shelf life on changes of apple firmness of 'Elstar', 'Jonagold' and 'Gloster' cultivars. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 10: 11-22.
- 31- Kovacs E., and Meresz P. 2004. The effect of harvesting time on the biochemical and ultrastructural changes in Idared apple. Acta Alimentaria, 33: 285-296.
- 32- Kupferman E., Spotts R., and Sugar D. 1995. Practices to reduce postharvest pear diseases. Tree Fruit Postharvest Journal, 6: 18-23.
- 33- Kuzucu F., and Sakaldas M. 2008. The effects of different harvest times and packaging types on fruit quality of *Cydonia oblonga* cv. Esme. Journal of Agricultural Faculty HR. U. 3: 33-39.
- 34- Kvikliene N., and Valiuskaite A. 2009. Influence of maturity stage on fruit quality during storage of 'Shampion' apples. Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Sodininkyste Ir Darzininkyste, 3: 117-123
- 35- Lemoine M.L., Civello P.M., Martinez G.A., and Chaves A.R. 2007. Influence of postharvest UV-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var. Italica). Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 1132-1139.
- 36- Lin Y.F., Lin H.T., Lin Y.X., Zhang S., Chen Y.H., and Jiang X.J. 2016. The roles of metabolism of membrane lipids and phenolics in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit. Postharvest Biology and Technology, 111: 53-61.
- 37- Maniei A. 1995. Planting to harvest of pear and quince. Technical publication Iran 113p. (in Persian with English abstract).
- 38- Mohebi M., Babalar M., Askari M.A., Talaei A., and Barker A.V. 2017. Effects of harvest date on apple fruit quality at harvesting and after cold storage. International Journal of Horticultural Science and Technology, 4: 21-27.
- 39- Mosharaf L., and Ghasemi A. 2004. Effect of harvesting time to increase the storage life of Isfahan quince cultivar. Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources, 2: 181-189. (in Persian with English abstract)
- 40- Nikkhah S.H. 2011. Effect of harvesting time and sodium chloride concentration on storage quality of Spadona and Koshia pear cultivars. Horticultural Science Journal, 3: 243-250.
- 41- Nikkhah S.H., and Ghanji Moghadam E. 2006. Maintenance of qualitative and quantitative characteristics of Gorton

- quince cultivar using Thiabendazole fungicide. 4th Congress of Horticultural Science, Mashhad, Iran.
- 42- Paniagua C., Pose S., Morris V.J., Kirby A.R., Quesada M.A., and Mercado J.A. 2014. Fruit softening and pectin disassembly: an overview of nanostructural pectin modifications assessed by atomic force microscopy. *Annals of Botany*, 114: 1375-1383.
- 43- Pasquariello M.S., Rega P., Migliozi T., Capuano L.R., Scortichini M., and Petriccione M. 2013. Effect of cold storage and shelf life on physiological and quality traits of early ripening pear cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162: 341-350.
- 44- Raese J.T., and Drake S.R. 2000. Effect of calcium sprays, time of harvest, cold storage and ripeness on fruit quality of 'Anjou' pears. *Journal of Plant Nutrition*, 23: 843-853.
- 45- Rasoulzadegan Y. 1992. Tree growing in temperate regions. Publication of Isfahan University of Technology, 756p. (in Persian with English abstract)
- 46- Rahemi M., and Akbari H. 2004. The effects of thermal treatment and type of packaging on quality and storage period of quince fruit. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 4: 72-83. (in Persian with English abstract)
- 47- Singleton V.L., and Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phospho- molybdic-phospho- tungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- 48- Soska A., and Tomala K. 2006. Internal quality of apples during storage. *AGRONOMIJAS VESTIS (Latvian Journal of Agronomy)*, 9: 146-151
- 49- Thakur B.R., Singh R.K., and Nelson P.E. 1996. Quality Attributes of processed tomato Products. *Food Reviews International*, 3: 357-401.
- 50- Valero D., and Serrano M. 2010. Postharvest biology and technology for preserving fruit quality. CRC-Taylor and Francis, Boca Raton, USA.
- 51- Weibel F., Widmer F., and Husstein A. 2004. Comparison of production systems: integrated and organic apple production. Part III: Inner quality: composition and sensory. *Schweizer Zeitschrift für Obst- und Weinbau*, 140: 10-13.
- 52- Zhang L., Wang J., Zhou B., Li G., Liu Y., Xia X.L., Xia Z., Lu F., and Ji S. 2019. Calcium inhibited peel browning by regulating enzymes in membrane metabolism of 'Nanguo' pears during post-ripeness after refrigerated storage. *Scientia Horticulturae*, 244 :15-21.



Determination of the Appropriate Harvest Time and Storability of some Cultivars and Promising Genotypes of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in Cold Storage Conditions

M. Tatari^{1*}- M. Mahlouji²- E. Ghorbani³

Received: 29-08-2018

Accepted: 24-11-2019

Introduction: The evaluation of storage characteristics and determination of resistance to post-harvest disorders in horticultural crops is highly important. 'Viduja' as new quince cultivar and KVD2 and KVD4 promising quince genotypes were collected from different regions of Isfahan Province. As these cultivar and promising genotypes are new, it is necessary to determine the most appropriate harvest time for them based on effective harvest indices. This research was carried out for the determination of the best harvest time and storage period of these promising quince cultivar and genotypes.

Material and Methods: This experiment was carried out on 'Viduja' as new cultivar and KVD2 and KVD4 genotypes as promising genotypes and 'Isfahan' cultivar as control, which was grafted on hawthorn seedling rootstock. In April, the full bloom time of these cultivars and genotypes was monitored to report harvest time based on the number of days after flowering for each cultivar and genotype. Fruits were harvested on October 6th, 14th, and 21th, 2016 in the horticultural research station of Mobarakeh. Fruits were transferred to cold storage with 0±1°C and 90±5% R.H. for five months. Some traits were measured in the harvesting date and also at the end of every month. These traits included weight loss percentage, fruit firmness, TSS, TSS/TA, pectin, total phenol, surface browning and decay percentage. The experiment was carried out as a factorial experiment in a completely randomized design with three replicates (10 fruits in each replicate).

Results and Discussion: 'Viduja' cultivar and KVD2 and KVD4 genotypes were early flowering and had similar flowering time. Isfahan quince cultivar was late flowering and had moderate overlap with KVD2 and KVD4 genotypes. According to the results, the highest weight loss was observed in the fifth month of storage. In this month, 'Isfahan' and 'Viduja' cultivars showed the most and the least weight loss, respectively. Others showed increased water loss and reduced fruit weight with increased storage time. For example, with increasing the duration of storage in the cold storage, the weight loss of 'Gorton' quince cultivar increased. In all cultivars and genotypes, the highest TSS and TSS/TA were founded in the third harvest and fifth and fourth month of storage. Mosharraf and Ghasemi (34) reported that TSS in the last harvesting time and after five months of storage time was 20.16% in 'Isfahan' cultivar. In their research, TSS was 14.75% in harvesting time that was less than the rate of this trait in the current study. The highest TSS/TA belonged to 'Isfahan' and 'Viduja' cultivars. The highest fruit firmness was obtained at harvest time of 'Isfahan' and KVD2 genotype, and the lowest of that was observed in five months after the storage of KVD4 genotype. In the Esme quince cultivar, the fruit firmness in the third harvest quickly decreased, and after six months it was 3 kg cm⁻². At harvesting time of KVD4 genotype, the highest phenol content was observed. 'Isfahan', 'Viduja' cultivars and KVD2 genotype showed the lowest phenol content after five months of storage. Increasing the storage period resulted in a decrease in phenol content in all cultivars and genotypes. Similarly, other researchers showed that the total phenol content gradually decreased with prolonged fruit storage (6 and 7). KVD4 genotype and 'Isfahan' cultivar showed the most pectin content at harvesting time. Increasing the storage time reduced the rates of pectin. According to Mosharraf and Ghasemi (39), increased storage period reduces pectin content in Isfahan cultivar fruits. The fruit surface browning was begun from the fourth month of storage, and there was no significant difference with the amount of this trait in the fifth month. Surface browning in the third harvest of Esme cultivar was also more than the previous harvestings, and eventually reached 70% (30). With prolonging storage time, the decay percentage increased. The first decay was observed from the third month of storage and reached its highest level in the fifth month. Isfahan cultivar had the highest percentage of decay. Other cultivar and genotypes had no significant difference in decay percentage.

Conclusions: Finally, the best harvesting time for 'Isfahan', 'Viduja', KVD2 and KVD4 cultivars and

1, 2 and 3- Assistant Professors and Trainer, Horticulture Crops Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. AREEO, Isfahan, Iran

(* - Corresponding Author Email: mtatari1@gmail.com)

genotypes were 185, 200, 200 and 193 days after full bloom respectively. Fruit storage in the cold for four months is advisable for 'Isfahan' and 'Viduja' cultivars and KVD4 genotype. In KVD2 genotype fruits, five-month storage is recommended.

Keywords: Post-harvest, Surface browning, Pectin, Phenol content



ارزیابی تاثیر روش های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن و برخی خصوصیات

فیتوشیمیایی شمعدانی عطری (*Pelargonium graveolens*)

حسن مومیوند^{۱*} - عبدالحسین رضایی نژاد^۲ - شیرین تقی پور^۳ - کبری سپهوند^۴ - بهنام مرادی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۰

چکیده

خشک کردن یکی از مهم ترین فرآیندهای پس از برداشت گیاهان دارویی است. در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر روش های مختلف خشک کردن بر گیاه دارویی شمعدانی عطری، آزمایشی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و ۱۲ تیمار اجرا شد. تیمارهای مورد آزمایش شامل خشک کردن در ماکروویو (توان ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات)، خشک کردن در آون (دمای ۴۵، ۵۵ و ۶۵ درجه سانتی گراد)، خشک کردن طبیعی (خشک کردن در سایه محصور اتاق، سایه هوای آزاد، ۵ ساعت آفتاب و سپس انتقال به سایه، ۱۰ ساعت آفتاب و سپس انتقال به سایه، و آفتاب کامل) و نمونه گیاهی تازه (به عنوان شاهد) بودند. در روش های مختلف خشک کردن، کاهش وزن نمونه ها تا رسیدن محتوای رطوبت به ۱۲ درصد (بر پایه ماده خشک گیاهی) ادامه یافت. نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده تأثیر معنی دار روش های مختلف خشک کردن بر زمان خشک کردن، فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی با دو روش دی پی پی اچ و اف آرای پی و محتوای اسانس بود. کمترین و بیشترین زمان خشک کردن (۴/۰۵ دقیقه و ۶ روز) به ترتیب مربوط به تیمارهای خشک کردن با توان ۹۰۰ وات ماکروویو و خشک کردن در سایه هوای آزاد بود. بالاترین محتوای فنل کل (۱۴/۷۸ میلی گرم گالیک اسید در صد گرم ماده خشک) و فلاونوئید کل (۱۲/۸۳ میلی گرم کوئرستین در صد گرم ماده خشک) به ترتیب در تیمار سایه محصور و سایه هوای آزاد و بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی ($IC_{50}=1/02$) در نمونه تازه مشاهده گردید. همچنین گیاهان خشک شده در آون با دمای ۴۵ درجه نیز از نظر فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی غنی بودند. در حالی که نمونه های خشک شده در سه توان ماکروویو و نمونه های خشک شده در آفتاب کامل کمترین میزان را برای این صفات نشان دادند. بالاترین محتوای اسانس (۰/۲ درصد وزنی/وزنی بر پایه ماده خشک گیاهی) نیز در تیمار خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه مشاهده گردید. به طور کلی می توان گفت که خشک کردن در دماهای بالای آون و توان های بالای ماکروویو باعث کاهش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی و درصد اسانس شمعدانی عطری گردید. در حالی که روش های خشک کردن در سایه محصور، سایه هوای آزاد و آون با دمای ۴۵ درجه، کمترین کاهش را در این صفات نسبت به نمونه گیاه تازه نشان دادند.

واژه های کلیدی: شمعدانی عطری، خشک کردن، فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی

مقدمه

آرایشی-بهداشتی، غذایی و داروسازی استفاده می شود (۲). اسانس این گیاه دارای خواص متعددی از جمله ضد عفونی کنندگی و تحریک کنندگی سیستم لنفوی برای درمان زخم ها، آبله و تب است (۲۰) و (۲۳). از دیگر خواص گیاه شمعدانی می توان به خاصیت ضد میکروبی، ضد اضطراب و بهبود بریدگی و خراشیدگی اگزما و هموروئید اشاره کرد (۱۹). عصاره هیدروالکلی برگ گیاه شمعدانی عطری غنی از ترکیبات فلاونوئیدی است. ترکیبات دیگری مانند ویتامین های A و E، کومارین و اسیدهای چرب غیر اشباع نیز از ترکیبات شاخص در این عصاره می باشند (۳۷). علاوه بر این عصاره شمعدانی عطری اثرات تسهیل کنندگی در رشد سلول های جنین دارد (۱۲). گیاهان دارویی دارای سطح بالایی از رطوبت و میکروارگانیسم ها هستند. بنابراین جهت جلوگیری از فساد این

شمعدانی عطری (گل عطر چای) با نام علمی *Pelargonium graveolens* گیاهی چند ساله از تیره Geraniaceae است. این گونه گیاهی کند رشد، عموماً علفی با ساقه های بلند و دارای برگ های گرد با حاشیه موج دار است و عطری شبیه گل سرخ و سیب دارد. اسانس گیاه شمعدانی عطری به طور وسیعی در صنایع عطرسازی،

۱، ۲، ۳ و ۵- به ترتیب استادیار، دانشیار، دانشجوی دکتری و دانشجوی کارشناسی

ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۴- کارشناس گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان

(*) نویسنده مسئول: (Email: mumivand.h@lu.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.76354

محصولات و اجتناب از کاهش کمیت و کیفیت مواد مؤثره آن‌ها، خشک کردن سریع پس از برداشت مواد گیاهی بسیار ضروری است (۲۴). خشک کردن یکی از قدیمی‌ترین روش‌های نگهداری مواد گیاهی و از مهم‌ترین فرآیندهای پس از برداشت گیاهان دارویی است. این فرآیند شامل حذف رطوبت با استفاده از عمل تبخیر تا حد رسیدن به یک آستانه خاص است که منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌ها، میکروب‌ها و مخمرها در محصول و کاهش فساد و زوال آن می‌شود، در نتیجه نگهداری محصول را برای مدت طولانی بدون کاهش کمیت و کیفیت آن امکان‌پذیر می‌کند (۶). اندام‌های مختلف گیاهان معمولاً پس از جمع‌آوری حاوی مقادیر فراوانی رطوبت (۶۰ تا ۸۰ درصد) هستند که باید این میزان رطوبت را بسته به نوع اندام گیاه دارویی به ۱۴-۱۰ درصد کاهش داد (۱، ۹ و ۲۵). از طرف دیگر خشک کردن گیاهان تغییرات فیزیکی و شیمیایی را در آن‌ها به همراه دارد. در برخی موارد، فرآیند خشک کردن منجر به افزایش بازده اسانس بعضی از گیاهان معطر می‌شود. در فرآیند خشک کردن گیاهان دارویی با توجه به نوع مواد مؤثره (آلکالوئید، اسانس، فنل، ترپنوئید و...) آن‌ها باید روش مناسبی انتخاب نمود. با به کارگیری روش‌های خشک کردن سریع و صنعتی، نه تنها کیفیت محصول حفظ می‌شود، بلکه مدت زمان خشک کردن نیز به میزان چشم‌گیری کاهش خواهد یافت. با مقایسه دو روش خشک کردن با آون و خشک کردن در ماکروویو در نعنای فلفلی (*Mentha piperita* L.) مشخص شد که روش خشک کردن در ماکروویو باعث حفظ بیشتر اسانس گیاه می‌شود (۳۳). در پژوهشی، تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن (شش توان ماکروویو، سه دمای مختلف آون و خشک کردن در سایه و آفتاب) را بر گیاه بابونه مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از آن بود که سریع‌ترین روش خشک کردن مربوط به ماکروویو و کندترین روش مربوط به خشک کردن در سایه بود. در این آزمایش بالاترین درصد اسانس در روش‌های خشک کردن با آون ۵۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد و خشک کردن در سایه به دست آمد، در حالی که کم‌ترین میزان اسانس در روش‌های خشک کردن در آفتاب، توان‌های بالای ماکروویو و دمای بالای آون مشاهده شد (۶). در پژوهشی دیگر گزارش نمودند که طی فرآیند خشک کردن واکنش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی رخ می‌دهند که منجر به تغییرات قابل توجهی در ترکیب مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌شوند (۱۰). در مطالعه‌ای دیگر، تاثیر روش‌های خشک کردن در آفتاب، آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و روش ترکیبی آون-ماکروویو با توان ۷۰۰ وات را بر خصوصیات نعنای فلفلی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که کوتاه‌ترین زمان خشک شدن در روش آون-ماکروویو بود. همچنین در این روش بیش‌ترین ترکیبات فنل کل و بهترین کیفیت رنگ گزارش شد (۴). در بررسی‌ای دیگر، تاثیر دماهای مختلف خشک کردن را بر

ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، رنگ و میزان ترکیبات فنلی فلفل قرمز مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی با افزایش دما از ۵۰ درجه به ۹۰ درجه سانتی-گراد کاهش یافت و بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پایین‌ترین دما (۵۰ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد (۳۶). در پژوهشی با بررسی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن (طبیعی و آون) بر زمان خشک کردن و برخی متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی بادرنجبویه نشان دادند که بیش‌ترین درصد اسانس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در روش خشک کردن با آون با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و بیش‌ترین میزان فنل کل در روش خشک کردن با آون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و خشک کردن در اتاق حاصل گردید (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر، با بررسی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر زمان خشک شدن و برخی صفات بیوشیمیایی نعنای فلفلی گزارش کردند بالاترین میزان فنل کل در نمونه تازه و سپس در نمونه‌های خشک‌شده در ماکروویو ۹۰۰ وات و سایه مصنوعی مشاهده شد، در حالی که کم‌ترین میزان فنل کل در تیمار آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نمونه تازه، نمونه خشک‌شده در سایه و ماکروویو بود و کم‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان در نمونه‌های خشک‌شده در آون با دمای ۵۰ و ۷۰ درجه سانتی‌گراد به دست آمد (۳۰). با توجه به کاربرد گسترده گیاه دارویی شمعدانی عطری در صنایع داروسازی، عطرسازی و آرایشی-بهداشتی، و نظر به اهمیت فرآیند خشک کردن در گیاهان دارویی، ادویه‌ای و عطری، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن (خشک کردن با ماکروویو، آون و روش‌های طبیعی) بر مدت زمان خشک شدن و برخی صفات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تیمارهای خشک کردن گیاهان

این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار (روش‌های مختلف خشک کردن) و ۳ تکرار در آبان ۱۳۹۶ اجرا گردید. برای انجام آزمایشات، از نمونه‌های گیاهی کاشته شده در کلکسیون آموزشی-تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان (در مرحله گل‌دهی کامل) استفاده شد. این منطقه در محدوده ۳۳ درجه و ۲۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۱۴۸ متر از سطح دریا قرار دارد. از نظر اقلیمی نیز دارای دمای حداقل و حداکثر ۱۴/۶- و ۴۷ درجه سانتی‌گراد و متوسط بارندگی ۴۹۹ میلی‌متر می‌باشد. برای انجام آزمایش گیاهان شمعدانی عطری صبح زود برداشت شدند و بعد از حذف شاخه‌های نیمه خشبی، میزان ۱۰۰ گرم برگ تازه (به عنوان یک واحد آزمایشی) توزین و برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. روش‌های مختلف مورد

نیز از آزمون F آرای پی^۳ استفاده گردید (۷). این آزمون بر اساس کاهش Fe^{3+} -TPTZ (زرد رنگ) به Fe^{2+} -TPTZ (آبی رنگ) در pH پایین استوار است. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام گرفت.

تجزیه آماری داده ها

تجزیه واریانس داده ها بر اساس طرح پایه کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و ۳ تکرار با استفاده از نرم افزار MINITAB صورت گرفت و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون حداقل تفاوت معنی دار^۴ در سطح ۱ درصد انجام شد. برای ترسیم جداول و نمودارها از نرم افزارهای Word و Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها (جدول ۱) بیانگر اثر معنی دار ($p \leq 0.01$) روش های مختلف خشک کردن بر تمامی صفات مورد مطالعه به جز نسبت فنل کل به فلاونوئید بود.

زمان خشک کردن

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) نشان داد که طولانی ترین زمان خشک شدن به ترتیب مربوط به نمونه های خشک شده در سایه هوای آزاد (۶ روز) و سایه محصور (۵ روز) بود. تیمارهای خشک کردن با ماکروویو با توان های ۹۰۰ وات (۴/۳ دقیقه)، ۶۰۰ وات (۵/۵۳ دقیقه) و ۳۰۰ وات (۱۳/۲۲ دقیقه) و خشک کردن با آون در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد (۱۰۰ دقیقه) نیز به ترتیب کمترین زمان خشک شدن را به خود اختصاص دادند. نتایج نشان داد که با کاهش توان ماکروویو زمان خشک شدن افزایش یافت. در تیمارهای خشک کردن با آون نیز با افزایش دمای آون لازم برای خشک شدن گیاهان کاهش یافت. مدت زمان خشک شدن، تابعی از میزان رطوبت گیاه و دمای محیط است و با افزایش دما به دلیل تبخیر سریع تر آب، عمل خشک شدن نیز سریع تر صورت می گیرد. نتایج مشابهی در مورد کاهش زمان خشک شدن با افزایش توان ماکروویو در هویج (۲۶)، انگور (۳۵)، قارچ خوراکی (۲۹) و جعفری (۳۲) گزارش شده است. خشک کردن طبیعی با استفاده از جریان هوای گرم به دلیل کاهش هزینه های مربوط به مصرف انرژی اهمیت زیادی دارد. با این وجود، خشک کردن طبیعی (تحت شرایط سایه و آفتاب) معایبی نظیر عدم امکان جابجایی مقادیر زیاد ماده گیاهی و دستیابی به استانداردهای ثابت کیفیت را نیز به دنبال دارد. از جمله معایب خشک کردن با استفاده از هوای گرم نیز می توان به بازده پایین انرژی و زمان بر بودن این فرآیند اشاره نمود

استفاده در این آزمایش شامل خشک کردن در آون (دمای ۴۵، ۵۵ و ۶۵ درجه سانتی گراد) مدل UNpa110 ممرت آلمان، خشک کردن در ماکروویو (توان های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات) مدل MG402MADXBB سامونگ و خشک کردن طبیعی (خشک کردن در سایه محصور اتاق با میانگین دمای ۲۲ درجه سانتی گراد، خشک کردن در آفتاب کامل با میانگین دمای ۲۶ درجه سانتی گراد، خشک کردن در سایه فضای آزاد با میانگین دمای ۲۴/۵ سانتی گراد، خشک کردن در آفتاب به مدت ۵ ساعت سپس انتقال به سایه محصور اتاق و خشک کردن در آفتاب به مدت ۱۰ ساعت سپس انتقال به سایه محصور اتاق) بود. در این پژوهش در تمامی روش ها، خشک کردن گیاهان تا رسیدن وزن نمونه ها به محتوای رطوبتی ۱۲ درصد (بر پایه ماده خشک گیاهی) ادامه یافت (در پایان، طول زمان خشک شدن گیاهان در همه روش ها محاسبه گردید. برای تعیین محتوای رطوبتی اولیه گیاهان، ۳ نمونه ۳۰ گرمی در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت خشک شدند. میزان رطوبت بر پایه وزن خشک گیاه که به صورت درصد بیان می شود، از رابطه زیر محاسبه گردید که برابر با ۶۲/۵ درصد بود (۲۲).

$$\text{میزان رطوبت بر پایه وزن تر} = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{\text{وزن تر}} \times 100$$

برای انجام مطالعات فیتوشیمیایی گیاهان تازه نیز از مزرعه برداشت شدند (به عنوان تیمار شاهد) و تمام آزمایشات فیتوشیمیایی روی نمونه تازه نیز انجام گرفت.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنل و فلاونوئید کل

استخراج عصاره شمعدانی عطری با روش خیساندن (۱۷) انجام شد. جهت اندازه گیری میزان فنول کل از معرف فولین سیوکالتیو استفاده گردید (۳۴). میزان فلاونوئید کل نیز به روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم و بر اساس دستورالعمل کوتردلو (۲۷) اندازه گیری شد. در ادامه ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره با دو روش انجام گرفت. در روش اول از معرف دی پی پی ای^۱ (۱ و ۱- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل) با استفاده از دستورالعمل چوی^۲ و همکاران (۱۱) استفاده و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره بر حسب IC₅₀ بیان گردید. در این روش توانایی عصاره در به دام انداختن رادیکال های دی پی پی ای و انتقال الکترون یا هیدروژن رادیکالی و تبدیل فرم DPPH رادیکالی به فرم کاهش یافته DPPH-H مورد ارزیابی قرار می گیرد. در روش دوم

3- FRAP

4 -Least Significant Difference (LSD)

1- DPPH

2- Choi

به روش آن کوتاه‌تر بود. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق مبنی بر کاهش زمان خشک‌شدن با افزایش توان ماکروویو و افزایش دمای آن، با نتایج محققان دیگر در جعفری (۳۲)، نعنای فلفلی (۲۳) و مرزه (۱۳) مطابقت داشت.

(۳۱). عزیزی و همکاران (۶) گزارش کردند که روش‌های ماکروویو و آن در مقایسه با روش طبیعی، مدت زمان خشک‌کردن گل‌های بابونه را به‌صورت معنی‌داری کاهش دادند. از طرف دیگر زمان خشک‌شدن در روش ماکروویو (به خصوص در توان‌های بالا) نسبت

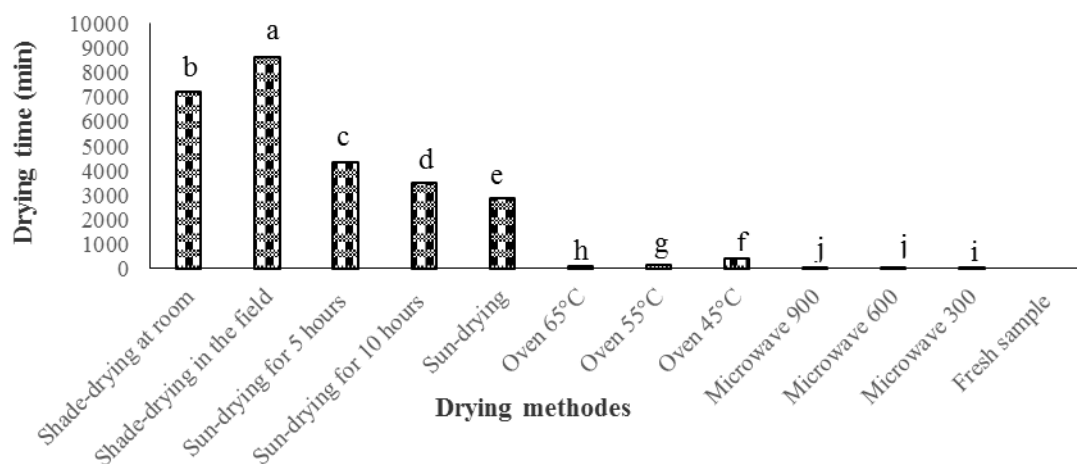
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر خصوصیات فیتوشیمیایی شمعدانی عطری

Table 1- ANOVA for the effect of different drying methods on phytochemical properties of *Pelargonium graveolens*

میانگین مربعات Mean of squares								
منبع تغییر SOV	درجه آزادی df	زمان خشک‌شدن Drying time	فنل کل Total phenol	فعالیت آنتی‌اکسیدان DPPH	فعالیت آنتی‌اکسیدان FRAP	فلاونوئید Flavonoids	نسبت فنل به فلاونوئید Total phenol/ Flavonoids	محتوای اسانس Essential oil content
تیمار Traits	11	28420561**	230.71**	0.137**	664.37**	31.00**	1.93 ^{ns}	0.0000552**
خطا Error	32	15	13.29	0.0025	109.95	1.62	0.96	0.000216

*, **, و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیرمعنی‌دار

*, **, and ns: significant at 0.05, 0.01 probability levels, ns: means non-significant, respectively



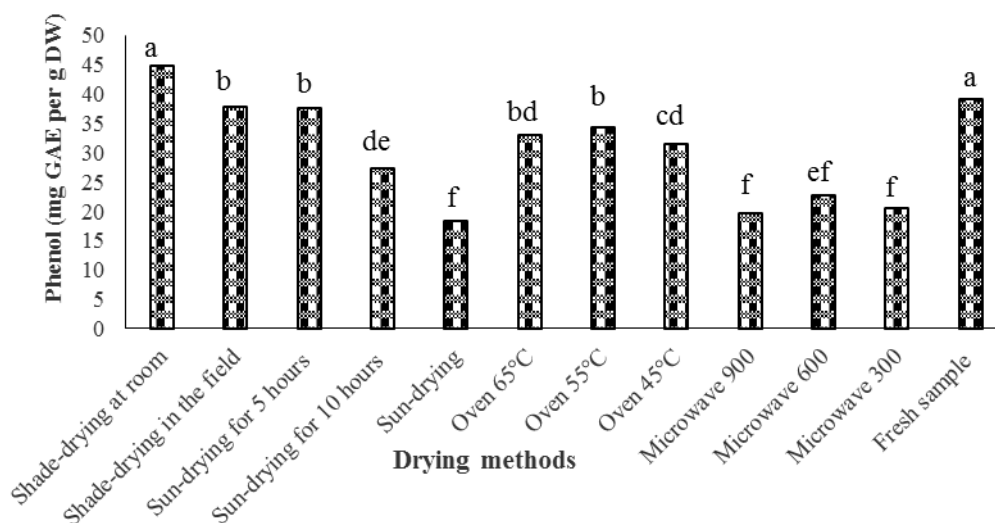
شکل ۱- تاثیر روش‌های مختلف خشک‌کردن بر مدت زمان خشک‌شدن شمعدانی عطری

Figure 1. The effect of different drying methods on drying time of *Pelargonium graveolens*. (LSD, $p \leq 0.01$)

گرم ماده خشک) قرار داشت. در بین روش‌های خشک‌کردن طبیعی، پایین‌ترین میزان فنل کل در تیمار آفتاب کامل (۱۸/۲۳ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مشاهده شد. نتایج این بررسی نشان داد که میزان ترکیبات فنلی با قرار گرفتن نمونه‌های گیاهی در معرض آفتاب و درجه حرارت بالا کاهش یافت.

محتوای فنل و فلاونوئید کل

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲) نشان داد که بالاترین میزان فنل کل (۴۴/۷۸ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مربوط به نمونه‌ی شمعدانی عطری خشک‌شده در سایه محصور بود و پس از آن نیز نمونه‌ی گیاهی تازه (۳۹/۱۲ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰



شکل ۲- تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای فنل کل شمعدانی عطری

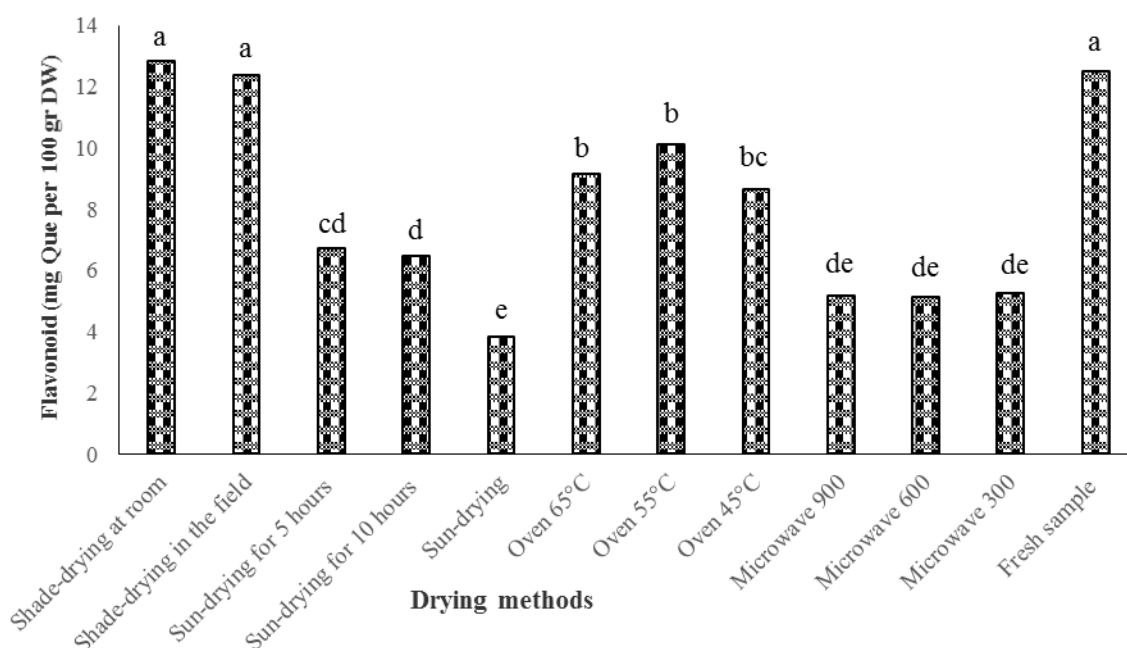
Figure 2- The effect of different drying methods on total phenol content of *Pelargonium graveolens*. (LSD, $p \leq 0.01$)

میزان فلاونوئید کل مشاهده نشد، اما میزان فلاونوئید کل در این روش‌ها نسبت به نمونه تازه و نمونه‌های خشک شده در سایه کاهش معنی‌داری نشان داد. در تیمارهای ماکروویو هم اختلاف معنی‌داری بین سه توان مشاهده نشد و میزان فلاونوئید کل در این تیمارها پایین‌تر از تمامی تیمارها (به جز روش خشک کردن در آفتاب کامل) بود.

به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که در روش‌های طبیعی خشک کردن، با قرار گرفتن نمونه‌های گیاهی در معرض آفتاب میزان فنل و فلاونوئید کاهش یافت، به‌طوری که در این بررسی کم‌ترین میزان فنل و فلاونوئید کل در نمونه‌های خشک شده در آفتاب کامل مشاهده شد. نتایج این تحقیق با مطالعه راکیک و همکاران (۲۸) مطابقت داشت. در بررسی ایشان روی گیاه بلوط، تغییرات مشاهده شده در میزان ترکیبات فنلی در دمای بالا را به تاثیر حرارت بر ترکیبات تاننی نسبت دادند. تانن‌های قابل هیدرولیز در درجه حرارت‌های بالا تجزیه می‌شوند. ترکیبات فنلی غالباً درون واکوئل قرار دارند و فرآیند خشک کردن باعث تخریب ساختارهای سلولی و واکوئل‌ها و خروج ترکیبات فنلی از آن‌ها می‌شود. بنابراین ترکیبات فنلی در مقابل هر تغییری حساس می‌شوند و با افزایش دما از بین می‌روند. کاهش فلاونوئیدها بر اثر خشک کردن می‌تواند به علت افزایش تانن‌های تغلیظ شده باشد که در نتیجه پلیمریزاسیون فلاونوئیدها به تانن‌های تغلیظ شده در دماهای بالای خشک کردن اتفاق می‌افتد (۱۷).

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، با مقایسه تیمارهای دماهای مختلف آون و توان‌های مختلف ماکروویو از نظر محتوای فنل کل روند مشخصی مشاهده نشد. با این حال نمونه‌های خشک شده در آون نسبت به نمونه‌های خشک شده در ماکروویو از نظر ترکیبات فنلی غنی‌تر بودند. در بین تیمارهای خشک کردن با آون، بیش‌ترین میزان فنل کل شمعدانی عطری در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد (۳۷/۳۷ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) مشاهده شد. در بین تیمارهای خشک کردن با ماکروویو نیز توان ۶۰۰ وات (۲۲/۶۵ میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم ماده خشک) بیش‌ترین میزان فنل کل را به خود اختصاص داد. در مجموع میزان فنل کل در روش خشک کردن با ماکروویو نسبت به اغلب روش‌ها پایین بود و احتمالاً این کاهش ناشی از تجزیه این ترکیبات با تخریب بافت‌های گیاهی طی فرآیند خشک کردن است.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۳)، میزان فلاونوئید کل در بین روش‌های مختلف خشک کردن روندی نسبتاً مشابه با میزان فنل کل داشت. بالاترین میزان فلاونوئید کل (۱۲/۸۳، ۱۲/۴۹ و ۱۲/۳۷ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک) به‌ترتیب مربوط به نمونه سایه محصور، نمونه تازه و نمونه سایه هوای آزاد بود. نتایج نشان داد که با قرار گرفتن نمونه‌های گیاهی در معرض آفتاب از میزان فلاونوئید کل آن‌ها کاسته شد. به‌نحوی که در بین تمامی روش‌ها کم‌ترین میزان فلاونوئید کل در تیمار خشک کردن در آفتاب کامل (۳/۸۳ میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم ماده خشک) به‌دست آمد. در بین روش‌های خشک کردن در آون اختلاف معنی‌داری از نظر



شکل ۳- تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر محتوای فلاونوئید کل شمعدانی عطری

Figure 3- The effect of different drying methods on total flavonoids content of *Pelargonium graveolens*. (LSD, $p \leq 0.01$)

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۴) بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در گیاهان تازه ($IC_{50}=1/0.2$) و کم‌ترین آن در تیمار خشک کردن با ماکروویو با توان‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ (به ترتیب $IC_{50}=1/6.2$ و $IC_{50}=1/5.5$) مشاهده شد. در تیمارهای خشک کردن با روش‌های طبیعی روند تغییرات متفاوت بود، به طوری که نمونه خشک شده در ۱۰ ساعت آفتاب و نمونه آفتاب کامل (به ترتیب $IC_{50}=1/4.3$ و $IC_{50}=1/3.8$) فعالیت آنتی اکسیدانی کم‌تری نسبت به سایر تیمارها داشتند. در صورتی که گیاهان خشک شده در سایه محصور، سایه آزاد و ۵ ساعت در آفتاب، فعالیت آنتی اکسیدانی مشابه با نمونه تازه نشان دادند.

بین تیمارهای خشک کردن با آون با دماهای مختلف، تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده نشد. تیمارهای خشک کردن با ماکروویو با توان‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ وات، فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری در مقایسه با خشک کردن با توان ۹۰۰ وات ($IC_{50}=1/4.2$) نشان دادند. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گزارش نمود در گیاه شمعدانی عطری تیمارهای خشک کردن در سایه و آون با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد را در بین روش‌های مختلف خشک کردن نشان دادند. در حالی که کم‌ترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به روش خشک کردن با ماکروویو بود. به طور کلی با افزایش دما طی فرآیند خشک کردن، قدرت احیاءکنندگی عصاره کاهش می‌یابد

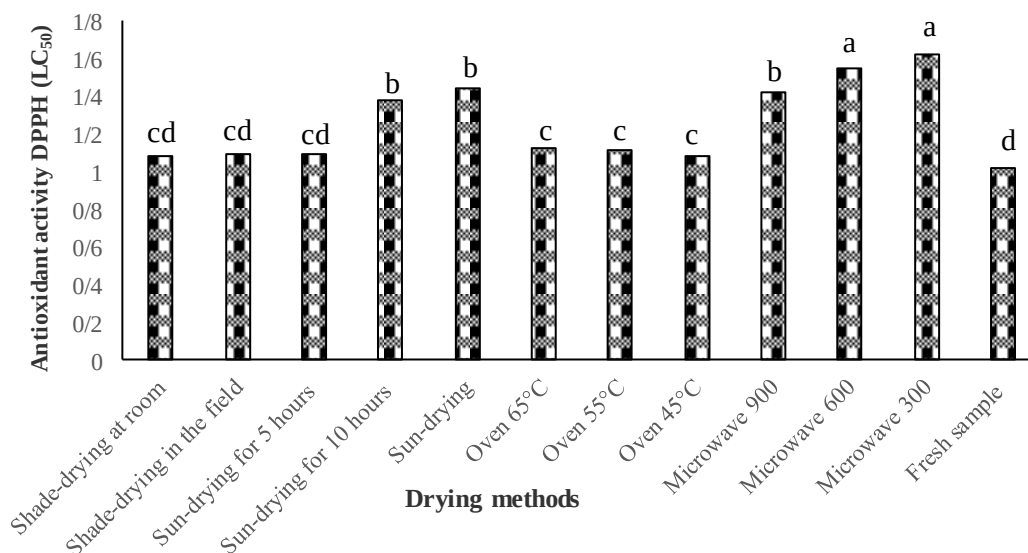
نتایج هامرونی سلامی و همکاران (۱۶) نشان داد که توان ۸۰۰ وات ماکروویو سبب افزایش میزان فنل و فلاونوئید کل شد. آن‌ها بیان کردند که با افزایش قدرت ماکروویو از ۶۰۰ به ۸۰۰ وات، میزان فنل کل به طور معنی‌داری افزایش یافت. در پژوهش ارسالان و همکاران (۴) کم‌ترین میزان فنل کل مربوط به نمونه‌های خشک شده در آون بود در حالی که نمونه‌های خشک شده در تیمار آون-ماکروویو و پس از آن تیمار آفتاب بیشترین میزان فنل کل را داشتند. این محققان بیان کردند که علت این افزایش احتمالاً به خاطر آزادسازی ترکیبات فنلی طی خشک کردن است و علت کاهش ترکیبات فنلی در آون را به دمای بالا نسبت دادند. در پژوهشی نیز گزارش کردند که با افزایش دمای خشک کردن، میزان ترکیبات فنلی کل کاهش می‌یابد که می‌تواند به دلیل اثر تخریبی دماهای بالا روی ترکیبات فنلی باشد (۸).

ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی به روش دی‌پی‌پی‌اچ

نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره شمعدانی عطری در آزمون دی‌پی‌پی‌اچ بر حسب IC_{50} بیان شد. IC_{50} نشان‌دهنده غلظتی از عصاره است که موجب ۵۰ درصد بازدارندگی رادیکال آزاد می‌گردد. مقدار این کمیت بوسیله آنالیز همبستگی خطی به دست آمده از مقادیر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره در غلظت‌های مختلف نمونه تعیین شد.

عصاره دارند (۱۴).

که دلیل اصلی این امر می تواند ناشی از اثر تخریبی دما بر ترکیبات فنلی باشد، زیرا این ترکیبات تاثیر مستقیمی بر قدرت احیاکنندگی



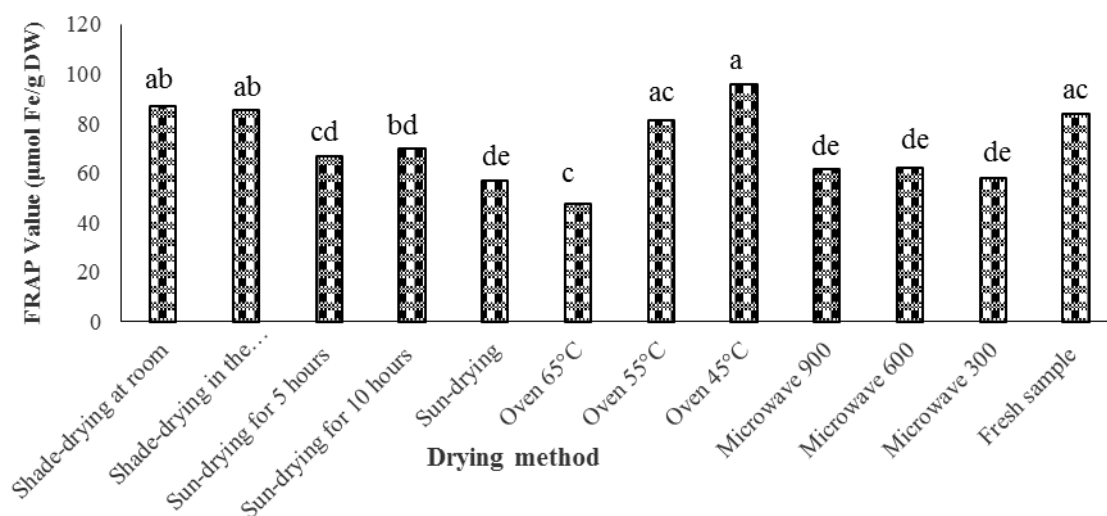
شکل ۴- تاثیر روش های مختلف خشک کردن بر فعالیت آنتی اکسیدانی شمعدانی عطری در آزمون دی پی پی اچ
Figure 4- Effect of different drying methods on the antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* in DPPH assay.
(LSD, $p \leq 0.01$)

به نحوی که در بین این روش ها کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی (۵۷/۰۹ میکرومول آهن بر گرم عصاره) مربوط به نمونه خشک شده در آفتاب کامل بود.

نتایج هامرونی سلامی و همکاران (۱۷) نشان داد که بین روش های مختلف خشک کردن، تیمار ماکروویو با توان ۸۰۰ وات بیشترین فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد را نشان داد، درحالی که کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به روش آون با دمای ۶۵ درجه بود. این محققان بیان کردند که با افزایش دما طی فرآیند خشک کردن، قدرت احیاکنندگی عصاره کاهش می یابد و دلیل اصلی آن را ناشی از اثر تخریبی دما بر ترکیبات فنلی عنوان کردند (۱۴). شهدادی و همکاران (۳۱) نیز گزارش کردند که بیشترین و کمترین فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب مربوط به خرما خشک شده در آفتاب و خرما خشک شده در گرمخانه ۸۰ درجه سانتی گراد بود. پیگا و همکاران (۲۵) علت افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی آلو را پس از خشک شدن در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد مربوط به تشکیل محصولات واکنش میلارد طی فرآیند خشک کردن دانستند. محققین در پژوهشی (۲) نشان دادند که خشک کردن در آفتاب به دلیل تجزیه آنتی اکسیدان های طبیعی طی فرآیند خشک شدن، باعث کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی شد.

فعالیت آنتی اکسیدانی به روش اف آر ای پی

نتایج آزمون اف آر ای پی بر حسب میکرو مول آهن بر گرم عصاره بیان شد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه های خشک شده در آون با دمای ۴۵ درجه، سایه محصور و سایه هوای آزاد و نمونه تازه (به ترتیب ۸۷/۰۴، ۸۵/۱۶ و ۸۳/۷۱ میکرومول آهن بر گرم عصاره) بود. کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نیز در نمونه های خشک شده در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد (۴۷/۷۲ میکرومول آهن بر گرم عصاره) به دست آمد. در تیمارهای خشک کردن با آون، با کاهش درجه حرارت فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش نشان داد و بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی در بین این روش ها در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد (۹۵/۸۴ میکرومول آهن بر گرم عصاره) به دست آمد. به طور کلی نمونه های خشک شده در ماکروویو در مقایسه با سایر تیمارها ظرفیت آنتی اکسیدانی پایینی نشان دادند و در بین این روش ها نیز با افزایش توان دستگاه فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش یافت، به نحوی که بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۵۷/۸۷ میکرومول آهن بر گرم عصاره) در توان ۳۰۰ وات مشاهده گردید. در روش های خشک کردن طبیعی با افزایش مدت زمان قرارگرفتن نمونه های گیاهی در معرض آفتاب، ظرفیت آنتی اکسیدانی کاهش نشان داد.



شکل ۵- تاثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر فعالیت آنتی اکسیدانی شمعدانی عطری به روش FRAP

Figure 5-Effect of different drying methods on antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* in FRAP assay (LSD, $p \leq 0.01$)

محتوای اسانس

در این مطالعه، میزان اسانس شمعدانی عطری به طور معنی داری تحت تاثیر روش‌های مختلف خشک شدن قرار گرفت (شکل ۶). بالاترین مقدار اسانس در تیمار خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه (۲/۰ درصد وزنی/وزنی) به دست آمد. گیاهان خشک شده در سایه هوای آزاد و آون با دمای ۵۵ درجه نیز در درجات بعدی از نظر میزان اسانس قرار داشتند. کمترین مقدار اسانس مربوط به تیمار خشک کردن در ماکروویو (۹۰۰ وات) (۰/۰۴ درصد وزنی/وزنی) بود. تغییرات محتوای اسانس در روش‌های مختلف خشک کردن بستگی به درجه حرارت، نوع بافت و زمان خشک شدن نمونه دارد (۲۱).

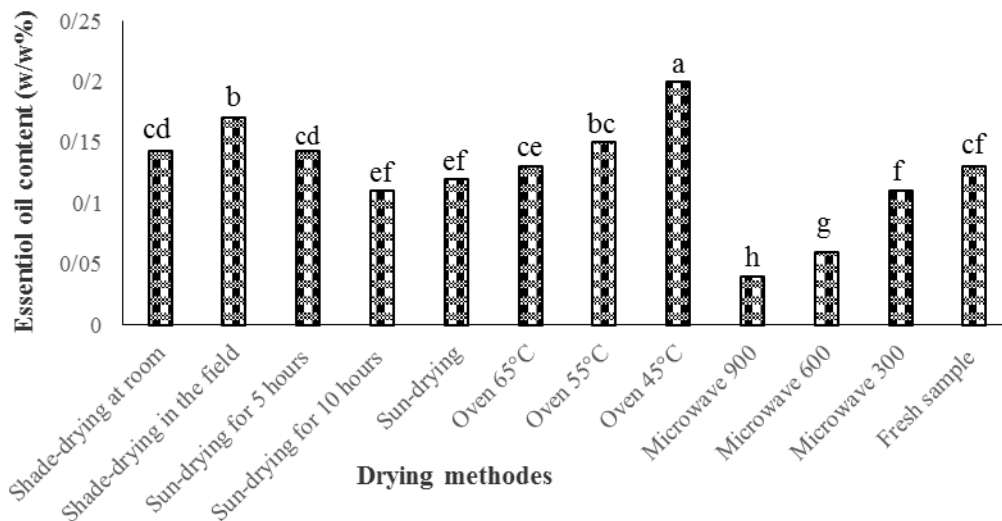
نتایج این آزمایش نشان داد روش خشک کردن می تواند تاثیر معنی داری بر میزان اسانس شمعدانی عطری داشته باشد. در این آزمایش، روش خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد و خشک کردن در سایه هوای آزاد بهترین روش‌ها برای حفظ اسانس مواد گیاهی شناخته شدند. اگرچه مقدار اسانس نمونه تازه در سطح برابری با اسانس نمونه‌های خشک شده در آون و در سایه قرار داشت، اما اسانس گیری از نمونه‌ی تازه نیازمند سرعت بالاتر و تجهیزات اسانس گیری بیش تری بوده و در صورت نیاز به نگهداری ماده گیاهی به مدت طولانی، به انبار و سردخانه نیاز خواهد بود و ممکن است منجر به کاهش میزان استخراج اسانس شود. در این آزمایش روش‌های خشک کردن طبیعی (به استثنای روش خشک کردن در آفتاب) و آون بهترین روش‌ها به منظور حفظ اسانس بودند. در روش خشک کردن با ماکروویو هر چند سرعت خشک شدن بیش تر از سایر روش‌ها است و نمونه‌های خشک شده نیز از نظر ظاهری دارای کیفیت

بهتری هستند اما این روش منجر به کاهش شدید مقدار اسانس می شود (۲۳). در این مطالعه میزان اسانس در گیاهان خشک شده با ماکروویو شدیداً کاهش نشان داد که مشابه سایر پژوهش‌های صورت گرفته است. کاهش مقدار اسانس با افزایش دمای آون در این تحقیق نیز می تواند ناشی از تبخیر اسانس به همراه رطوبت در هنگام خشک شدن باشد. کاهش محتوای اسانس با افزایش دمای خشک کردن در گیاهانی مثل نعناع و شوید (۵)، ترخون (۳) و مریم گلی (۱۶) نیز گزارش شده است.

ضرایب همبستگی

نتایج همبستگی صفات فیتوشیمیایی (جدول ۲) نشان داد که بین مقدار فنل کل با فلاونوئید کل همبستگی مثبت و معنی داری ($r=0.74$) در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. به طوری که هر چه مقدار فنل کل بالاتر بود، میزان فلاونوئید بیشتر شد. به دلیل اینکه فلاونوئیدها خود از جمله‌ی ترکیبات فنلی هستند وجود این نوع همبستگی قابل پیش بینی است. هم چنین همبستگی منفی و معنی داری ($r=-0.80$) بین فنل کل با میزان IC_{50} در روش دی پی ای دیده شد. یعنی با افزایش میزان فنل کل، میزان IC_{50} کاهش یافته که نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر عصاره است. همبستگی منفی و معنی داری ($r=-0.75$) نیز بین میزان فلاونوئید و میزان IC_{50} در روش دی پی ای وجود داشت، که به معنی وجود ارتباط مستقیم بین میزان فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره است. برای این که ارتباط بین محتوای فنل و فلاونوئید و خاصیت آنتی اکسیدانی آن‌ها مشخص گردد، همبستگی بین خاصیت

آنتی اکسیدانی و مجموع محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئید آن تعیین شد.



شکل ۶- تاثیر روش های مختلف خشک کردن بر محتوای اسانس شمعدانی عطری

Figure- 6. Effect of different drying methods on essential oil content (w/w) of *Pelargonium graveolens*. (LSD, $p \leq 0.01$)

(همبستگی مثبت بین محتوای فنل و فلاونوئید عصاره ها و خاصیت آنتی اکسیدانی آن ها). بنابراین بین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید با فعالیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده به روش جذب رادیکال DPPH ارتباط مثبت و معنی داری مشاهده شد.

نتایج به دست آمده از روش مهار رادیکال های آزاد DPPH، همبستگی مثبت بالایی را بین محتوای فنل و فلاونوئید با فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها نشان داد. به این معنی که هر چه مقدار این ترکیبات در عصاره ها بیشتر می گردد اثر مهارری بیشتری را اعمال نموده، مقدار IC_{50} کمتر یا فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر می شود

جدول ۲- ضریب همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی در روش های مختلف خشک کردن شمعدانی عطری

Table 2- Correlation coefficient between phytochemical traits in different drying methods of *Pelargonium graveolens*

صفات Traits	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoids	نسبت فنل به فلاونوئید Total phenol/ Flavonoids	آنتی اکسیدان DPPH	آنتی اکسیدان FRAP	زمان خشک شدن Drying time	محتوای اسانس Essential oil content
فنل کل Total phenol	1						
فلاونوئید Flavonoids	0.74**	1					
نسبت فنل به فلاونوئید Total phenol/ Flavonoids	0.13 ^{ns}	-0.69**	1				
آنتی اکسیدان DPPH	-0.80**	-0.75**	0.25 ^{ns}	1			
آنتی اکسیدان FRAP	0.47 ^{ns}	0.52 ^{ns}	-0.39 ^{ns}	-0.53 ^{ns}	1		
زمان خشک شدن Drying time	0.47 ^{ns}	0.38 ^{ns}	-0.43 ^{ns}	-0.32 ^{ns}	0.30 ^{ns}	1	
محتوای اسانس Essential oil content	0.56**	0.53 ^{ns}	-0.22 ^{ns}	-0.68**	0.48 ^{ns}	0.68**	1

*, ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و غیرمعنی دار

*, ** and ns: significant at 0.05, 0.01 probability levels, ns: means non-significant, respectively

آنتی اکسیدانی عصاره و محتوای اسانس گردید. در بین روش‌های مورد مطالعه، تیمارهای خشک کردن در سایه محصور و سایه هوای آزاد و نمونه تازه بیشترین میزان فنول کل، فلاونوئید کل و بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در هر دو آزمون دی‌پی‌پی‌اچ و اف‌آرای‌پی نشان دادند. کمترین میزان نیز برای اغلب صفات مورد مطالعه در تیمار خشک کردن در آفتاب کامل و خشک کردن در ماکروویو مشاهده گردید. بالاترین مقدار اسانس نیز در تیمار خشک کردن در آون با دمای ۴۵ درجه، سایه هوای آزاد و آون با دمای ۵۵ درجه به دست آمد. بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که در مجموع روش‌های خشک کردن در سایه محصور، سایه هوای آزاد و آون با دمای ۴۵ درجه برای گیاه شمعدانی عطری مناسب‌تر هستند، در حالی که تیمارهای خشک کردن در ماکروویو و آفتاب کامل برای گیاه مناسب نیستند. علاوه بر این نتایج این تحقیق نشان داد که بین میزان فنول کل و فعالیت آنتی اکسیدانی در هر دو آزمون ارتباط معنی‌داری مشاهده شد.

بررسی نتایج نشان می‌دهد که میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی محاسبه شده به روش DPPH، در اثر قرار گرفتن گیاهان در معرض نور خورشید در خشک شدن طبیعی کاهش یافت. علاوه بر این میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در تیمارهای خشک کردن با ماکروویو کاهش نشان داد. به طور کلی می‌توان این گونه بیان کرد که افزایش دما در تیمارهای ۱۰ ساعت آفتاب، آفتاب کامل، توان‌های ماکروویو و دمای بالای آون باعث تخریب ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شده که در نهایت منجر به کاهش قدرت احیاکنندگی گیاه شمعدانی عطری شده است.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان چنین بیان کرد که افزایش توان ماکروویو و افزایش دمای آون در فرآیند خشک کردن شمعدانی عطری، منجر به کاهش محتوای فنل و فلاونوئید کل، فعالیت

منابع

1. Afrasian D. and Ozcan, M.M. 2008. Evaluation of drying methods with respect to drying rosemary leaves. Energy Con. Mana. J. 49: 5.1258-1264. Agriculture and Food Chemistry, 48: 1485- 1490.
2. Al- Farsi M., Alasalvar C., Morris A., Baron M. and Shahidi F. 2005. Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. Food Chemistry, 53: 1752-9.
3. Arabhosseini A., Padhye S., Beek T.A., Boxel A.J., Huisman W., Posthumus M.A. and Müller J. 2006. Loss of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) due to drying. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86 (15): 2543-2550.
4. Arslan D., Ozcan M.M., and Okyay Menges H. 2010. Evaluation of drying methods with respect to drying parameters, some nutritional and colour characteristics of peppermint (*Mentha × piperita* L.). Energy Conver and Manage, 51: 2769- 2775.
5. Ayyobi H., Peyvast G.A. and Olfati J.A., 2014. Effect of drying methods on essential oil yield, total phenol content and antioxidant capacity of peppermint and dill. Ratarstvo i povrtarstvo - Journal on Field and Vegetable Crops Research, 51 (1): 18-22.
6. Azizi M., Rahmati M., Ebadi T. and Hasanzadeh Khayyat M. 2009. The effects of different drying methods on weight loss rate, essential oil and chamazulene contents of chamomile (*Matricaria recutita*) flowers. Iranian Journal Of Medicinal and Aromatic Plants, 25(2): 182-192. (In Persian).
7. Benzie IFF. and Strain JJ .1996. The ferric reducing agent of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239:70-76.
8. Besbes S., Blecker C., Deroanne C., Bahloul N., Lognay G. and Drira N. E. 2004. Date seed oil: phenolic, tocopherol and sterol profiles. Journal Food Lipids, 11: 251- 5.
9. Brovelli E.A., Li Y. and Chui, K. 2003. Image analysis reflects drying conditions of *Echinacea purpurea* Herb. Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants. 10: 2.19-24.
10. Capecka E., Mareczek A., and Leja M. 2005. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some Lamiaceae species. Food Chemistry, 93: 223- 226.
11. Choi CW., Kim SC., Hwang SS., Choi BK., Ah H.J., Lee MY., Park SH. and Kim, SK .2002. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. Plant Science. 163:1161-1168.

12. Duchow S., Blaschek W., Classen B. 2015. Reproduction of medicinal plant *Pleargonium sidoides* via somatic embryogenesis. *Planta Medica*, 81(12-13): 1169-74.
13. Ebadi M. T., Rahmati M., Azizi M. and Hassanzadeh Khayyat, M. 2009. Effect of different drying methods (natural, oven and microwave) on drying time, percentage and essential oil components medicinal herbs (*Satureja hortensis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant*, 26 (4): 477-489.
14. Gao X., Bjok L., Trajkovski V. and Uggla M. 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 80: 2021- 7.
15. Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernandez-Gutierrez A. 2010. Phenolic-compound extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules* 15:8813-8826.
16. Hamrouni Sellami I., Zohra rahali F., Bettaieb Rebey I., Bourgou S., Limam F., and Marzouk B. 2012. Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) plants as affected by different drying methods. *Food Bioprocess Technology*, 5: 2978–2989.
17. Harboune N., Marete E., Jacquier J.C., and O’Riordan D. 2009. Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadow sweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *Food Chemistry*, 42(9): 1468- 73.
18. Hassanzadeh K., Hemmati Kh. and Mehdi Pour, M .2018. The effect of different drying methods (natural and oven) on the drying time and some secondary metabolites of Melissa (*Melissa officinalis* L.). *Journal of Plant Production Research*, 25(1), 143-137.
19. Karimian Z., Keramat A. 2014. Flushing Caused by menopause and herbal medicine in Iran. A systematic review, *Women's Magazine, Midwifery and Infertility*, 17: 1-11.
20. Lalli JYY, Van Zyl RL., Van Vuuren SF., Viljoen AM .2008. In vitro biological activities of South African Pelargonium (Geraniaceae) species. *South African Journal of Botany*, 74: 153-157.
21. Lewicki P.P. and Pawlak G. 2003. Effect of drying on the microstructure of plant tissue. *Drying Technology*. 12 (4), 657-683.
22. Martinov M., Oztekin S. and Muller J. 2007. Medicinal and aromatic crops. CRC Press, United States of America, 320 p.
23. Mir Mostafaei S., Azizi M., Bahraini M., Aryani M and Arrowhead F.2013. The effect of different drying methods on the rate weight loss, and microbial oils of Mentha (*Mentha piperita* L.), *Plant Production Research Journal*, Vol. 20, No. 4.
24. Nicoli M.C., Anese M., and Parpinel M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruits and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 94- 100.
25. Piga A., Del Caro A., Corda G. 2003. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3675- 3681.
26. Probbhanjan D.G., Ramaswamy H.S. and Raghavan G.S., 1995. Microwave assisted convective air drying of thin layer carrots. *Journal of Food Engineering*, 25: 283-293.
27. Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin J-C, Bailleul F, and Trotin F .2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72:35-42.
28. Rakic S, Petrovic S, Kukic J, Jadranin M, Tesevic V, Povrenovic D, et al. 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chem*; 104: 830-4.
29. Riva, M., Schirarldi, A. and Cesare, L., 1991. Drying of *Agaricus bisporus* mushrooms by microwave/hot.
30. Rozdar F, Azizi M., Ghani A. and Davari Nejad CH.M. 2014. Effect of different drying methods on drying time and some phytochemical properties of Mentha (*Mentha piperita* L.). *Journal of Horticultural Science*, 28(3): P. 407-415. (In Persian).
31. Shahdadi F., Mirzaie HA, Maghsadllo Y., Ghorbani, and Daraie garme khani A. 2011. Effect of drying process on the phenolic-compounds content and antioxidant activity of two varieties of date-palm fruit Kaluteh and Mazafati. (*Phoenix dactylifera*), *Journal of Nutrition Sciences and food industry Iran*, 6 (3): 67-74.
32. Soysal Y., Oztekin S., and Eren O. 2006. Microwave drying of parsley: modelling, kinetics, and energy aspects. *Biosystems Engineer*, 93(4): 403- 413.
33. Spanos GA, Wrolstad RE .1990. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38:1565-1571
34. Tomas J.M.G., Boot K.J., Allen L.H., Allo-Meagher M. and Davis J.M. 2003. Elevated temperature and carbon dioxide effects on Soybean seed composition and transcript abundance. *Crop Science*, 43: 1548- 1557.

35. Tulasidas T.N., Raghavan G.S.V. and Norris E.R. 1993. Microwave and convective drying of grapes. Transactions of the ASABE, 36: 1861-1865.
36. Vega-Galvez A., Scala K.D., Klemus-Mondaca R., Miranda M., Lopez J. and Perez-Won M. 2009. Effect of airdrying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum* L. var. Hungarian). Food Chemistry, 117(4): 647- 53.
37. Zargari A. Iranian Medicinal Plants. 6th ed. Tehran: Tehran University; 1997. p. 243-5.



Effect of Different Drying Methods on Drying Time and some Phytochemical Characteristic of *Pelargonium* (*Pelargonium graveolens*)

H. Mumivand^{۱*}-H. Rezaei Nejad^۲-Sh.Taghipour^۳-K. Sepahvand^۴-B. Moradi^۵

Received: 05-12-2018

Accepted: 02-10-2019

Introduction: Drying is one of the most important post-harvest techniques for medicinal plants. *Pelargonium graveolens* (known as geranium) is an important, high-value perennial, aromatic shrub that can reach a height up to 1.3 m and a lateral growth of 1 m. The essential oil of *P. graveolens* is extensively used in the perfumery and cosmetic industries. Medicinal plants produce antioxidant compounds, which defend cells against degenerative effects of reactive oxygen species produced during oxidative stress and metabolism. Antioxidants are molecules that scavenge free radicals and reduce/prevent their damages. Therefore, the identification of natural antioxidants as preservative agents plays a pivotal role for the food, cosmetic and pharmaceutical industry. This study was conducted to investigate the effect of different drying methods (microwave-drying, oven drying and ambient-drying) on drying time and some phytochemical properties of *P. graveolens*.

Material and Methods: In order to evaluate the effect of different drying methods on drying time and some phytochemical properties of *Pelargonium*, an experiment was conducted at the faculty of agriculture of Lorestan University (Khorramabad, Iran) in 2017. The experiment was carried out based on completely randomized design with 12 treatments and three replications. The drying treatments were microwave-drying (300, 600 and 900 watts), oven-drying (45, 55 and 65 °C), ambient-drying (shade-drying at room, shade-drying in the field, sun-drying for five hours and then transfer to the room shade, sun-drying for 10 hours and then transfer to the room shade, and sun-drying) and fresh samples (as control). In all drying methods, the drying process continued until the moisture content of samples reached to 12% based on dry matter.

Results and Discussion: The results of analysis of variance showed the significant effect of drying methods on total phenol and flavonoids contents, antioxidant activity and essential oil content of the plants. The minimum and maximum of drying time (4.05 min and 6 days, respectively) was related to microwave-drying (900 watts) and shade-drying in the field, respectively. The highest total phenol (14.78 mg GA per 100 g dry matter) and flavonoid (12.83 mg quercetin per 100 g dry matter) contents were observed in plants dried at room shade and field shade, while the highest antioxidant capacity ($IC_{50}=1.02$) was related to the fresh samples. The plants dried in the oven (45 °C) also had a notable phenol and flavonoid contents with high antioxidant activity. On the contrary, the samples dried in the microwave and sunshine showed the lowest amount of phenol and flavonoid contents and antioxidant activity. The highest essential oil content was obtained from oven-drying at 45 °C (0.2 %w/w based on dry mater), followed by shade-drying in the field (0.17 %w/w based on dry mater), and oven-drying at 55 °C (0.15 %w/w based on dry mater). While, the lowest essential oil content occurred with microwave-drying at 900 W (0.04 w/w based on dry mater). In this study, the amount of essential oil in the microwave-drying plants was significantly reduced by increasing the power of the microwave. The decrease in essential oil content with increasing oven temperature was also observed. The decrease in essential oil content with increasing oven temperature has also been reported in other species such as peppermint, dill, tarragon and sage and could be due to evaporation of the essential oil along with moisture losing during drying process. The results of Hamrouni Sellami *et al.* (2012) showed that drying in microwave at 800 w increased total phenol and flavonoid levels of sage (*Salvia officinalis* L.). Their results showed that as the microwave power increased from 600 to 800 watts, the total phenol content increased significantly. In research by Arslan *et al.*, (2010), the lowest total phenol content was observed in the oven dried samples, whereas the highest total phenol content was obtained from the oven-microwave treatment and sun drying. The researchers explained that this increase was probably due to the release of phenolic compounds during drying and the reason for the decrease in phenolic compounds in the oven was attributed to the high temperature. Besbes *et al.*, (2004) also reported that with

^۱, 2, 3, 4 and 5- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University

(* - Corresponding Author Email: mumivand.h@lu.ac.ir)

increasing drying temperature, the amount of total phenolic compounds decreases, which may be due to the destructive effect of high temperatures on phenolic compounds. In general, it could be concluded that drying in high temperature of oven and high power of microwave reduces the amount of phenolic and flavonoid compounds, antioxidant activity and essential oil content of *P. graveolens*. While, shade-drying and oven-drying at 45 °C showed the least reduction in these traits compared to the fresh samples.

Conclusion: It can be concluded that shade-drying at room, shade-drying in the field and oven-drying at 45°C are more suitable for the *P. graveolens*. While drying treatments in the microwave and sunshine are not suitable for the species. In addition, the results showed that there was a significant relationship between total phenol content and antioxidant activity in both assays.

Keywords: Antioxidant activity, Drying, Phenolic compounds, *Pelargonium graveolens*



نقش فرمولاسیون‌های مختلف کودی بر گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در مرحله سازگاری

احمد شریفی^۱ - سیده مهدیه خرازی^{۲*} - صبا نجاتی زاده^۳ - آزاده خادم^۴ - مریم مرادیان^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۲

چکیده

در کشاورزی سنتی، عموماً غلظت بالایی از عناصر غذایی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و بخش اعظمی از آن از طریق آبیاری خارج شده و در دسترس گیاه قرار نمی‌گیرد. چنانچه بتوان با مدیریت صحیح، نیاز تغذیه‌ای گیاه را مشخص نمود، می‌توان کارایی مصرف کود را افزایش و همچنین از آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی در کشور جلوگیری نمود. بنابراین پژوهش حاضر با هدف افزایش راندمان مصرف کود از طریق انتخاب تیمار کودی بهینه و سطح مطلوب آن جهت سازگاری و رشد مناسب گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا انجام شد. در آزمایش اول تیمارهای کودی مختلف با نسبت‌های متفاوت فسفر و پتاسیم (PK) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاکی از تاثیر مطلوب تیمار کودی گروه دو (با مقادیر ۷/۹۹ میلی مولار نیتروژن، ۱/۰۶ میلی مولار فسفر و ۴/۷۷ میلی مولار پتاسیم) بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا بود. در آزمایش دوم غلظت‌های مختلف تیمار کودی گروه دوم (۱X، ۰/۵X و ۱/۵X) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت تا سطح بهینه این تیمار کودی تعیین گردد. نتایج نشان داد که گیاهچه‌های رشد یافته تحت تیمار ۱/۵X کود گروه دوم، از شاخص‌های رشدی مطلوب‌تری در مقایسه با دو تیمار دیگر برخوردار بودند و میانگین‌های بالاتری را از لحاظ وزن خشک ریشه و شاخساره به خود اختصاص دادند. لذا به منظور سازگاری و رشد مطلوب گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا، تیمار کودی گروه دو با غلظت ۱/۵X توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: شاخص‌های رشدی، غلظت‌های مختلف تیمار کودی، نسبت‌های مختلف PK، نیاز تغذیه‌ای گیاه

مقدمه

می‌باشد و به دلیل بازارپسندی مناسبی که دارد، هر روز بر سطح تولید و پرورش آن افزوده می‌شود (۱۵).

از جمله عواملی که تولید و پرورش گیاهان زینتی از جمله ژربرا در کشور را با محدودیت روبه‌رو می‌کند، مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی وارداتی می‌باشند. بر اساس آمار ارائه شده فائو، میزان واردات کودهای شیمیایی حاوی NPK در سال ۲۰۰۳، ۲۳۱۵ تن برآورد شده است، این درحالی است که میزان واردات در سال ۲۰۱۷، ۹۵۲۷ تن ذکر شده است. در واقع مقایسه میزان واردات کودهای حاوی NPK در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۱۷ نشان می‌دهد که این میزان به بیش از چهار برابر میزان اولیه افزایش یافته است (فائو) که این آمار نشان‌دهنده مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی در کشور می‌باشد (۷). بنابراین چنانچه بتوان با مدیریت صحیح، نیاز تغذیه‌ای گیاه را در هر مرحله رشدی مشخص نمود، می‌توان کارایی مصرف کود را افزایش داد و همچنین از آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی در کشور جلوگیری نمود. از سوی دیگر، جهت تولید محصول با کیفیت مطلوب مدیریت شرایط تغذیه‌ای گیاه نقش مهمی را ایفا می‌کند (۲۲). گیاهان آب و عناصر غذایی مورد

ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii*، از جمله گیاهان زینتی است که بیشترین سطح زیر کشت را در غرب اروپا دارد و سابقه کشت آن به منظور گل شاخه‌بریده به اوایل قرن بیستم در فرانسه باز می‌گردد. اهمیت تجاری آن روز به روز در حال افزایش است، بنحوی که یکی از مهم‌ترین گل‌های شاخه‌بریده در بین ۱۰ گل شاخه‌بریده برتر جهان قرار دارد. این گیاه به صورت گل بریدنی و گلدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در صنعت گل به دلیل سازگاری با صنعت حمل و نقل، ماندگاری خوب و قیمت مناسب جایگاه ویژه‌ای دارد (۱۶). سطح زیر کشت این گیاه زینتی در ایران حدود ۲۰ هکتار

۱، ۲، ۴ و ۵ - استادیاران و مربیان، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی
۳- دانشجوی مقطع دکتری رشته بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(Email: ma_kh230@yahoo.com) (*- نویسنده مسئول)

نیاز خود را به مقادیر متفاوت در طول دوره رشد جذب می‌کنند (۳۱). بنابراین تغذیه نقش مهمی در رشد و عملکرد گیاه در کشت بدون خاک دارد. در این نوع کشت، تمام عناصر ضروری مورد نیاز گیاه باید از طریق کودهای محلول در آب فراهم گردد (۱۹). اگر غلظت عناصر غذایی مورد نیاز در محلول‌های غذایی در حد بهینه نباشد، ناهنجاری‌های تغذیه‌ای ایجاد شده و رشد و عملکرد گیاه به طور قابل توجهی کم می‌شود (۲۷ و ۳۰). برای مثال اگر غلظت آمونیوم در محلول غذایی زیاد باشد، رشد ریشه گیاه متوقف می‌شود (۲۸). همچنین اختلال در میزان جذب یک عنصر، می‌تواند جذب سایر عناصر را نیز با مشکل مواجه نماید. به عبارت دیگر این امر نشان می‌دهد که عناصر غذایی اثرات آنتاگونیستی و سینرژیستی بر روی جذب یکدیگر دارند (۲۸). علاوه بر این ارتباط نزدیکی بین pH بستر کشت و محتوای محلول غذایی وجود دارد. فرم و تعامل نمک‌های مورد استفاده در فرمول غذایی نیز میزان رشد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۷). یک فرمول غذایی بهینه برای گیاه بستگی به نوع و رقم گیاه، مرحله رشدی، فصل رشد، طول روز و شرایط آب و هوایی دارد. با توجه به اهمیت ترکیب محلول غذایی در تولید اقتصادی محصولات، مطالعات متعددی برای یافتن یک محلول غذایی بهینه برای گیاه انجام شده است. به عنوان مثال خلج و همکاران (۱۴) اثر سه نوع محلول غذایی مختلف را بر رشد و عملکرد گل ژربرا مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد بهترین عملکرد گل، کیفیت و رشد گیاه از گل‌های ژربرای تغذیه شده با محلول مرکز تحقیقات باغبانی و سبزی‌های گلخانه‌ای هلند بدست آمد. در مطالعه دیگری که توسط مولاسینی و همکاران (۲۱) انجام شد، تاثیر سطوح مختلف محلول جانشین بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه ژربرا مورد بررسی قرار گرفت و به منظور افزایش تعداد گل، غلظت ۱/۵ برابر محلول جانشین به عنوان بهترین تیمار معرفی گردید.

شرکت‌های معتبر گل و گیاهان زینتی از جمله شرکت‌های ترا نیگرا، ساکاتا و فلوریست دستورالعمل‌های متفاوتی برای پرورش گیاه ژربرا ارائه نموده‌اند. از آنجایی که سیستم‌های نوین گلخانه‌داری توسط کشورهای اروپایی از جمله هلند وارد کشور شده است، لذا با توجه به متفاوت بودن اقلیم ایران نسبت به کشورهای اروپایی، بومی سازی تکنولوژی‌های وارداتی با شرایط خاص کشور به منظور افزایش بازده تولید اهمیت ویژه‌ای دارد. از سوی دیگر، لازمه رشد صحیح گیاهان در شرایط گلخانه، فراهم آوردن شرایط مطلوب از نظر دما، شدت نور، رطوبت، عناصر غذایی و ... است و کمبود یکی از آن‌ها سبب وقفه در رشد می‌شود. به عنوان مثال جهت افزایش میزان جذب عناصر غذایی توسط گیاه، شرایط نوری و دمایی خاصی مورد نیاز است و توصیه‌های کودی انجام شده توسط شرکت‌های خارجی منطبق با شرایط اقلیمی خاص منطقه آن‌ها می‌باشد که تعدیل فرمول‌های ارائه شده با توجه به شرایط خاص کشور، جهت افزایش بهره‌وری این نهاده‌ها ضروری

است. از سوی دیگر توجه به این نکته ضروری است که یکی از حساس‌ترین مراحل در فرایند کشت بافت گیاهی، مرحله سازگاری می‌باشد. در این مرحله گیاه با تنش‌های محیطی شدیدی مواجه می‌شود و بیشترین درصد مرگ و میر گیاهچه‌های کشت بافتی در این مرحله اتفاق می‌افتد. زیرا برگ‌های ایجاد شده در گیاهچه‌های کشت بافتی از نظر واکس‌های کوتیکولی فقیر یا فاقد آن می‌باشند. علاوه بر این برگ‌ها نازک و دارای مزوفیل توسعه نیافته با میزان کلروفیل کم و تشکیلات کلروپلاستی ضعیف می‌باشند. روزنه‌ها غیر عملکردی و میزان فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی پایین و در نتیجه بازده فتوسنتزی گیاهچه‌ها کم می‌باشد. سیستم ریشه‌ای ناقص و توسعه ریشه‌های موئین ضعیف است. ارتباط آوندی بین ریشه و ساقه ناقص می‌باشد و در نتیجه باعث کاهش جذب عناصر غذایی، رطوبت و کاهش مقاومت گیاه در برابر شوک ناشی از انتقال و در نتیجه کاهش استقرار گیاهچه‌ها می‌شود (۵ و ۶). بنابراین مدیریت تغذیه صحیح و فراهم کردن شرایط بهینه رشد می‌تواند درصد زنده ماندن گیاهچه‌ها را افزایش دهد. لذا پژوهش حاضر با هدف افزایش راندمان مصرف کود از طریق انتخاب تیمار کودی بهینه و سطح مطلوب آن جهت سازگاری و رشد مناسب گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول: تاثیر تیمارهای کودی بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در مرحله سازگاری

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی اجرا گردید. جهت اجرای آزمایش از گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا رقم Sunway تولید شده در جهاد دانشگاهی خراسان رضوی استفاده گردید. پس از سازگاری اولیه گیاهچه‌ها با شرایط برون شیشه‌ای به مدت ۲ هفته، به منظور بررسی تاثیر نسبت‌های مختلف تیمار کودی بر رشد گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در مرحله سازگاری، تیمارهای کودی مختلف به شرح جدول ذیل مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱).

با توجه به اینکه کودهای تجاری آماده عموماً مقداری ناخالصی دارند، بنابراین برای کاهش میزان خطای وارده و افزایش دقت آزمایش، نمونه‌های کودی با استفاده از غلظت‌های مختلف نمک‌های NH_4NO_3 ، $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ، KH_2PO_4 ، KNO_3 ، K_2SO_4 ، $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ، $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ، $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ به همراه عناصر کم مصرف و آهن (FeSO_4) تهیه شدند (جدول ۲ و ۳). مواد شیمیائی جهت تهیه محلول‌های غذایی از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

جدول ۱- نسبت های مختلف کود مورد استفاده جهت تغذیه گیاهچه های ژربرا

Table 1 - Fertilizer treatments used for fertigation of plant samples

منبع	EC محلول غذایی	نسبت بین عناصر معدنی پر مصرف	تیمار کودی
Reference	EC of Nutrient solution (mS/cm)	Elements ratio (weight percent)	Fertigation treatment
Kacperska (11)	1.10	15(N), 5(P ₂ O ₅), 30(K ₂ O), 10.10(CaO), 2.16(MgO)	گروه یک
Bres et al (3)	1.13	15(N), 10(P ₂ O ₅), 30(K ₂ O), 11.10(CaO), 2.10(MgO)	گروه دو
Modified Bres et al (3)	0.92	15(N), 10(P ₂ O ₅), 15(K ₂ O), 11.10(CaO), 2.50(MgO)	گروه سه
Modified Mota et al (23)	1.06	15(N), 8(P ₂ O ₅), 12(K ₂ O), 11.10(CaO), 2.50(MgO)	گروه چهار
Modified Kacperska (11)	0.96	15(N), 5(P ₂ O ₅), 20(K ₂ O), 11.10(CaO), 2.50(MgO)	گروه پنج
Modified Florance Flora (8)	0.97	15(N), 15(P ₂ O ₅), 15(K ₂ O), 11.10(CaO), 2.50(MgO)	گروه شش

جدول ۲- مقادیر عناصر غذایی پر مصرف مورد استفاده جهت تغذیه نمونه های گیاهی ژربرا رقم Sunway

Table 2- The amounts of nutrients used for fertigation of gerbera cv. Sunway samples

عناصر پر مصرف						
Macro elements (mM)						
گروه شش	گروه پنج	گروه چهار	گروه سه	گروه دو	گروه یک	نام نمک
Group 6	Group 5	Group 4	Group 3	Group 2	Group 1	Salt name
0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	K ₂ SO ₄
0.94	2.21	2.03	1.23	3.62	3.8	KNO ₃
1	0.53	0.71	0.71	0.71	0.53	KH ₂ PO ₄
0.59	-	0.75	0.35	0.35	-	NH ₄ H ₂ PO ₄
0.85	0.75	0.53	0.85	0.53	0.75	NH ₄ NO ₃
1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.35	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O
0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	MgSO ₄ .7H ₂ O
0.07	0.07	0.07	0.07	-	-	Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O
0.82	0.59	3.25	0.8	-	-	CO(NH ₂) ₂

ادامه جدول ۲- مقادیر عناصر غذایی پر مصرف مورد استفاده جهت تغذیه نمونه های گیاهی ژربرا رقم Sunway

Continued Table 2- The amounts of element nutrients used for fertigation of gerbera cv. Sunway samples

گروه شش	گروه پنج	گروه چهار	گروه سه	گروه دو	گروه یک	نام عنصر
Group 6	Group 5	Group 4	Group 3	Group 2	Group 1	Element name
(mM)						
7.14	7.4	10.19	7.18	7.99	8	N
1.59	0.53	1.46	1.06	1.06	0.53	P
2.38	3.18	3.18	2.38	4.77	4.77	K
1.48	1.48	1.48	1.48	1.48	1.35	Ca
0.47	0.47	0.47	0.47	0.4	0.4	Mg
0.62	0.62	0.62	0.65	0.65	0.65	S

یک مرتبه آشیوبی کامل بسترهای کشت صورت می گرفت. طرح آزمایشی بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار در ۱۰ تکرار انجام شد. طی یک دوره پنج ماهه پارامترهای رشدی گیاه از جمله تعداد برگ تولیدی، طول دمبرگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد و طول ریشه، حجم ریشه، تعداد ریشه ثانویه، وزن تر و خشک ریشه مورد ارزیابی قرار گرفت.

گیاهچه های کشت بافتی ژربرا در گلدان هایی به قطر ۱۵ سانتی متر حاوی بسترهای کشت کوکوپیت: پرلیت (۵۰:۵۰) کشت گردیدند. پس از استقرار گیاهچه ها با توجه به نیاز آبی گیاهان، محلول دهی به طوری که محلول غذایی زهکش نگردد انجام گرفت؛ زیرا زهکش محلول غذایی از بستر کشت می تواند سبب تغییر غلظت عناصر غذایی به کار رفته در محلول کودی، طی دوره کشت گردد. با این حال به منظور جلوگیری از تجمع نمک در بستر کشت، هفته ای

جدول ۳- مقادیر نمک‌های کم مصرف و آهن مورد استفاده جهت تغذیه نمونه‌های گیاهی

Table 3- The amounts of micro elements and iron used for fertigation of plant samples

عناصر کم مصرف	غلظت (mM)
Micro elements	(mM)
MnCl ₂ , 4H ₂ O	0.0049
H ₃ BO ₃	0.020
ZnSO ₄	0.0061
CuSO ₄ , 5H ₂ O	0.00048
NaMoO ₄ , 2H ₂ O	0.00058
آهن	(mM)
Iron	
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0.0348
Na ₂ EDTA	0.0384

شد. میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۵۳ و ۶۶۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) قرائت شد. در نهایت نیز بر اساس روابط زیر مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل محاسبه شد.

$$\begin{aligned} \text{CHL a} &= 15.65 A_{666} - 7.34 A_{653} \\ \text{CHL b} &= 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666} \\ \text{C X+C} &= 1000 A_{470} - 2.860 \text{CHLa} - 129.2 \text{CHLb}/245 \\ \text{CHL t} &= \text{CHL a} + \text{CHL b} + \text{C X+C} \end{aligned}$$

a: CHL میزان کلروفیل

b: CHL میزان کلروفیل

C X+C: کاروتنوئید

t: CHL کلروفیل

تجزیه و تحلیل‌های آماری

آماده سازی داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Jump 8 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث

آزمایش اول: تاثیر تیمارهای کودی بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در مرحله سازگاری

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای کودی بر وزن تر و خشک ریشه گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). گیاهچه‌هایی که با تیمار کودی گروه دو تیمار شده بودند، ریشه‌هایی با وزن بیشتر در مقایسه با سایر گیاهچه‌ها تولید نمودند که اختلاف ایجاد شده از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود. همچنین کمترین میزان وزن تر و خشک ریشه در تیمار کودی گروه سه مشاهده شد (شکل ۱).

آزمایش دوم: تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار کودی منتخب بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در مرحله سازگاری

نتایج آزمایش پیشین بیانگر تاثیر بسیار مطلوب تیمار کودی گروه دو بر پارامترهای رشد رویشی گیاه ژربرا در مرحله سازگاری بود. لذا در این بخش از آزمایش به منظور افزایش کارایی مصرف کود و همچنین کاهش آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی، غلظت‌های مختلف تیمار کودی گروه دوم شامل ۰/۵ برابر غلظت (۰/۵x)، یک برابر غلظت (۱x) و ۱/۵ برابر غلظت (۱/۵x) مورد ارزیابی قرار گرفت تا سطح بهینه این تیمار کودی تعیین گردد. لازم به ذکر است که EC محلول‌های غذایی مورد استفاده در این بخش از آزمایش به ترتیب برابر با ۰/۶۵، ۱/۱۳ و ۱/۶۴ میکرو زیمنس بر سانتی‌متر بود. pH محلول‌های غذایی نیز با استفاده از اسید نیتریک و هیدروکسید سدیم در بازه ۵/۸-۶/۱ تنظیم گردید.

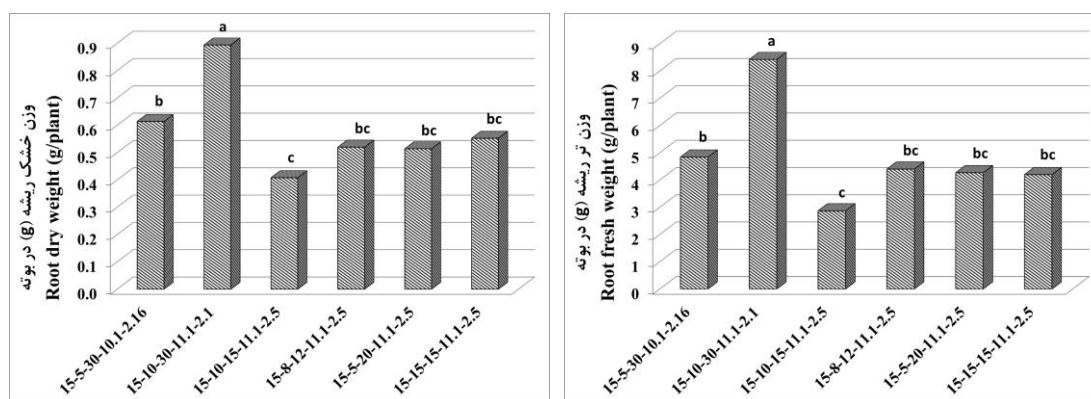
جهت سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا، از سینی‌های نشاء حاوی بسترهای کشت کوکوپیت: پرلیت (۵۰:۵۰) استفاده گردید. جهت پیاده سازی تیمارها از سه سینی نشاء ۱۰۵ خانه‌ای (حجم هر حفره ۳۳ سی سی) استفاده گردید. پس از استقرار گیاهچه‌های کشت بافتی، محلول‌های کودی مورد نظر از کف سینی‌های نشاء در اختیار گیاهچه‌ها قرار گرفت، به‌طوری‌که پس از هر مرحله کوددهی، تمامی محلول غذایی توسط بستر کشت جذب می‌گردید. طرح آزمایشی بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار در ۱۵ تکرار انجام شد. پس از دو ماه، پارامترهای رشدی گیاه از جمله تعداد برگ تولیدی، طول دمبرگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، درصد برگ های سالم، درصد برگ‌های نکروزه شده، تعداد و طول ریشه، حجم ریشه، تعداد ریشه ثانویه، وزن تر و خشک ریشه، میزان کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید کل مورد ارزیابی قرار گرفت.

میزان کلروفیل و کاروتنوئید: برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل ۲۰۰ میلی گرم برگ تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته جدا و استخراج رنگدانه‌ها با استفاده از ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۶ درصد انجام

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تیمارهای کودی مختلف بر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی گیاهچه های کشت بافتی ژبررا رقم Sunway
Table 4- ANOVA for the effects of different fertilizer treatments on the mean square of evaluated traits of gerbera plantlets cv. Sunway

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد برگ Leaf no.	طول دم برگ Petiole length	تعداد ریشه Root no.	طول ریشه Root length	حجم ریشه Root volume	تعداد ریشه ثانویه Secondary root no.	وزن تر برگ Leaf fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight
تیمار Treatment	5	2.44 ^{ns}	3.74 ^{**}	7.44 ^{ns}	10.73 ^{**}	19.74 ^{**}	1380 ^{**}	142.17 ^{ns}	17.65 ^{**}	1.29 ^{ns}	0.13 ^{**}
خطا Error	24	2.01	0.26	4.29	1.46	2.24	270.00	90.68	1.79	1.32	0.02

***, * و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معنی دار.
***, * and ns: significant at 1%, 5% and non-significant, respectively.



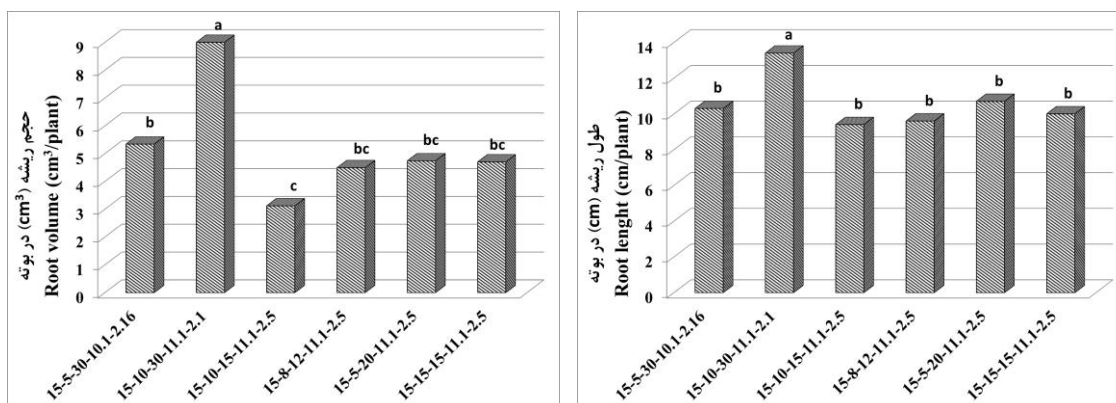
شکل ۱- اثر تیمارهای کودی مختلف بر وزن تر و خشک ریشه گیاهچه کشت بافتی ژبررا رقم Sunway
Figure 1- Effect of different fertilizer treatments on root fresh and dry weight of gerbera plantlets cv. Sunway

ولی با این حال بیشترین تعداد ریشه به ترتیب در تیمارهای کودی گروه دو و یک حاصل شد. از سوی دیگر تعداد ریشه ثانویه تولید شده به شدت تحت تاثیر تیمارهای کودی قرار گرفت، به طوری که بیشترین تعداد ریشه ثانویه در تیمار کودی گروه دو مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمارهای کودی گروه یک، سه و چهار داشت. کمترین میزان ریشه ثانویه نیز در تیمار کودی گروه یک حاصل شد (شکل ۳). نتایج تجزیه واریانس داده های آزمایش نشان داد که اثر تیمارهای کودی مختلف بر تعداد برگ تولیدی، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نبود ولی با این حال بیشترین میانگین ها در تیمار کودی گروه دو مشاهده شد (داده ها نشان داده نشده اند). همچنین طولی ترین دم برگ ها (۱۱/۵ سانتی متر) نیز متعلق به این تیمار کودی بود که تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد با سایر تیمارها داشت و کوتاه ترین دم برگ ها در تیمار کودی گروه چهار با میانگین ۸/۹ سانتی متر مشاهده شد (شکل ۴).

از لحاظ حجم ریشه تولیدی نیز تفاوت معنی داری بین تیمارهای کودی مختلف مشاهده شد ($p \leq 0.01$). حجم ریشه تولیدی در گیاهچه هایی که با تیمار کودی گروه دو تیمار شده بودند، سه برابر بیشتر از گیاهچه هایی بود که با تیمار کودی گروه سه تیمار شده بودند. کمترین حجم ریشه تولیدی با میانگین ۳/۱۲ سانتی متر مکعب در تیمار کودی گروه سه مشاهده شد که اختلاف معنی داری با تیمارهای کودی گروه ۴-۶ نداشت (شکل ۲).

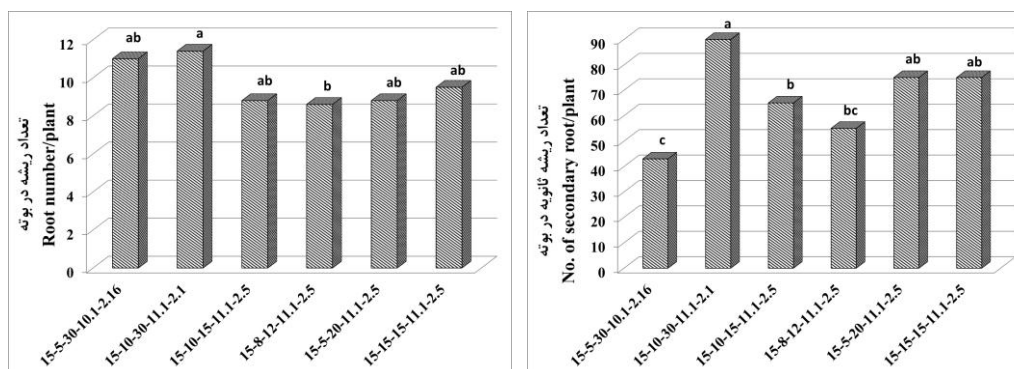
طول ریشه تولیدی نیز تحت تاثیر تیمارهای کودی مختلف قرار گرفت، به طوری که بیشترین میانگین این صفت (۱۳/۴ سانتی متر) متعلق به تیمار کودی گروه دو بود که اختلاف معنی داری با سایر تیمارهای کودی داشت. همچنین بین سایر تیمارهای کودی مورد استفاده از لحاظ طول ریشه تولیدی تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۲).

بر اساس نتایج به دست آمده بین تیمارهای کودی مختلف از لحاظ تعداد ریشه اصلی تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p \leq 0.05$).



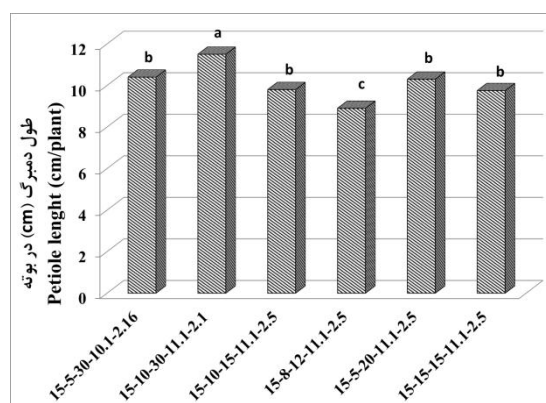
شکل ۲- اثر تیمارهای کودی مختلف بر حجم و طول ریشه گیاهچه کشت بافتی ژربرا رقم Sunway

Figure 2- Effect of different fertilizer treatments on root volume and root length of gerbera plantlets cv. Sunway



شکل ۳- اثر تیمارهای کودی مختلف بر تعداد ریشه اصلی و تعداد ریشه ثانویه در گیاهچه کشت بافتی ژربرا رقم Sunway

Figure 3- Effect of different fertilizer treatments on main root number and secondary root number of gerbera plantlet cv. Sunway



شکل ۴- اثر تیمارهای کودی مختلف بر طول دمبرگ در گیاهچه کشت بافتی ژربرا رقم Sunway

Figure 4- Effect of different fertilizer treatments on petiole length of gerbera plantlet cv. Sunway

بهینه تاثیر بسزایی بر افزایش رشد و کیفیت گیاهچه‌های مورد آزمایش داشت.

محاسبه میزان نیترات و آمونیوم مورد استفاده در شش تیمار کودی پژوهش حاضر نشان داد که میزان آمونیوم مورد استفاده در

کاربرد عناصر غذایی با نسبت‌های مختلف می‌تواند تاثیرات متفاوتی بر گیاه داشته باشد (۳۱). نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا نسبت به فرمول‌های کودی مختلف پاسخ‌های متفاوتی از خود نشان دادند و کاربرد فرمول کودی

سیستم های کشت بدون خاک استفاده می شود، نتایج مطلوبی را جهت پرورش گیاه ژربرا در پی نداشت و بهترین پاسخ رشدی از لحاظ عملکرد، کیفیت و رشد گیاه در نمونه های تغذیه شده با محلول غذایی کولاکوگلو-۴۲ حاصل شد (۳۱) که نسبت نیتروژن به پتاسیم در این محلول غذایی (۱/۸) تقریباً مشابه با نسبت به دست آمده در پژوهش حاضر (۱/۷) می باشد.

نتایج تحقیق سیرین (۳۱) نشان داد که در محلول غذایی با کمترین میزان نیتروژن، فسفر و پتاسیم در مقایسه با سایر محلول های غذایی، میزان تشکیل گیاهان دختری و وزن تر گیاه ژربرا بسیار پایین تر بود که علت آن می تواند غلظت پایین عناصر غذایی در این محلول غذایی باشد. مارشتر (۲۰) نیز گزارش کرد که در شرایط کمبود فسفر، رشد بخش هوایی گیاه در مقایسه با بخش زیرزمینی کاهش بیشتری می یابد که این امر می تواند باعث کاهش نسبت وزن خشک شاخساره به وزن خشک ریشه گردد.

ساواس و گیزاز (۲۹) نشان دادند که افزایش در میزان فسفر، پتاسیم و منگنز و متعاقب آن کاهش در میزان عناصر کلسیم، منیزیم و گوگرد به منظور بهینه نمودن شرایط تغذیه ای در محیط ریشه گیاه ژربرا در سیستم کشت بسته می تواند مناسب باشد. با این حال سیرین (۳۱) گزارش کرد که در محلول های غذایی با مقادیر یکسان پتاسیم و فسفر تفاوت معنی داری بین آنها از نظر وزن تر گیاه، وزن تر ریشه، تعداد ریشه، طول ریشه مشاهده شد که اختلاف یاد شده می تواند به دلیل تفاوت در نوع منبع نیتروژن و میزان نیتروژن مورد استفاده باشد. در مطالعه برس و همکاران (۳) کاربرد محلول غذایی با هدایت الکتریکی ۱/۶ mS/cm جهت پرورش گیاه ژربرا توصیه گردید. قابل ذکر است که در رابطه با نسبت نیتروژن به پتاسیم، نیتروژن به فسفر و پتاسیم به فسفر تشابه نسبی بین نسبت های به کار رفته در پژوهش برس و همکاران (۳) (۱/۷، ۷ و ۴) و پژوهش حاضر (۱/۷، ۷/۵ و ۴/۵) دیده می شود.

در تحقیق پیش رو کاربرد نسبت های مختلف تیمار کودی تاثیر بسزایی بر پارامترهای رشدی مورد ارزیابی داشت. نتایج به دست آمده بیانگر تاثیر بسیار مطلوب تیمار کودی گروه دو بر پارامترهای رشدی گیاهچه های ژربرا می باشد، لذا تیمار کودی گروه دو جهت سازگاری و رشد رویشی مطلوب تر گیاهچه های ژربرا توصیه می گردد. با این حال به منظور افزایش کارایی مصرف کود و همچنین کاهش آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی، انتخاب غلظت بهینه این تیمار کودی نیز ضروری می باشد تا از این طریق بتوان راندمان مصرف کود را افزایش داد. بنابراین آزمایش دیگری به منظور انتخاب سطح بهینه غلظت نمک های گروه دو طراحی گردید.

تیمار کودی تاثیر بسزایی در تعداد ریشه و وزن خشک ریشه داشت. در تیمار کودی گروه دو و پس از آن تیمار کودی گروه یک، بیشترین تعداد ریشه و وزن خشک ریشه مشاهده شد. در فرمول کودی این دو تیمار، اوره به عنوان منبع نیتروژن مورد استفاده قرار نگرفته بود، درحالی که در سایر تیمارهای کودی مورد مطالعه، علاوه بر دیگر منابع کودی تامین کننده نیتروژن، کود اوره نیز استفاده شده بود. از آنجا که کود اوره قبل از جذب توسط گیاه تبدیل به آمونیوم می شود، لذا کاربرد آن در فرمول کودی بر میزان آمونیوم مورد استفاده در ترکیب کودی تاثیرگذار است و باعث افزایش نسبت آمونیوم به نیترات در ترکیب کودی می گردد که این امر نیز به نوبه خود بر عملکرد ریشه تاثیرگذار است.

علاوه بر این مقایسه دو تیمار کودی گروه یک و دو نشان می دهد که افزایش میزان فسفر در تیمار کودی، تاثیر مثبتی بر میزان رشد اندام زیر زمینی گیاه دارد. به طوری که با افزایش میزان فسفر از ۰/۵۳ میلی مولار در تیمار کودی گروه یک به ۱/۰۶ میلی مولار در تیمار کودی گروه دو، تعداد ریشه ثانویه به بیش از دو برابر افزایش یافت. علاوه بر تعداد ریشه ثانویه، تاثیر مثبت افزایش میزان فسفر بر پارامترهایی نظیر طول ریشه، حجم ریشه تولیدی، وزن تر و خشک ریشه نیز مشهود می باشد. تحقیقات متعددی نیز تاثیر مثبت کاربرد کودهای حاوی فسفر را بر میزان رشد ریشه نشان می دهد (۱، ۲ و ۴). عنصر فسفر در نقل و انتقال انرژی و تقسیمات سلولی در گیاه نقش موثری دارد و کمبود آن باعث کاهش توده ریشه و در نتیجه کاهش جذب آب و مواد غذایی در گیاه و کاهش عملکرد می گردد (۱۳).

در پژوهشی خلج و همکاران (۱۴) اثر سه نوع محلول غذایی تجاری را بر رشد و عملکرد دو رقم ژربرا در سیستم کشت بدون خاک مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد محلول غذایی مرکز تحقیقات باغبانی و سبزی های گلخانه ای هلند تاثیر مطلوبی بر گیاهان تحت تیمار داشت و بیشترین تعداد برگ تولیدی نیز در این تیمار کودی (محلول غذایی مرکز تحقیقات باغبانی و سبزی های گلخانه ای هلند) حاصل شد. نسبت پتاسیم به فسفر در پژوهش خلج و همکاران (۱۴) (۴/۴۰) تقریباً مشابه با نسبت پتاسیم به فسفر مورد استفاده در تیمار کودی گروه دو (۴/۵۰) می باشد. همچنین نتایج مشابهی در رابطه با تشابه این نسبت در پژوهش های ژنگ و همکاران (۳۶) (۴/۶)، پارادیکوویک و همکاران (۲۶) (۴/۴) و هان و همکاران (۱۰) (۴/۱) با پژوهش حاضر به چشم می خورد.

بررسی پنج نوع محلول غذایی مختلف بر روی گیاه ژربرا مشخص نمود که کاربرد محلول های غذایی هوگلند، هویت^۱، کولاکوگلو-۱^۲ و استینر^۳ که برای پرورش بسیاری از گیاهان در

3 - Steiner, 1984

4 - Çolakoğlu-2 (Kılınç, 2005)

1 - Hewitt, 1966

2- Çolakoğlu-1 (Kılınç, 2005)

آزمایش دوم: تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار کودی منتخب بر پارامترهای رشدی گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در مرحله سازگاری

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف تیمار کودی منتخب بر طول دم‌برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، حجم و تعداد ریشه در

سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). داده‌های حاصل از اندازه‌گیری طول دم‌برگ گیاهچه‌های رشد یافته نشان داد که طولی‌ترین دم‌برگ‌ها در غلظت ۱/۵x تیمار کودی گروه دو حاصل شد ولی با این حال تفاوت معنی داری با غلظت ۱x نداشت. کوتاهترین دم‌برگ‌ها نیز در غلظت ۰/۵x تیمار کودی منتخب مشاهده شد (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف تیمار کودی بر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی گیاهچه کشت بافتی ژربرا رقم Sunway
Table 5- ANOVA for the effects of different concentration of fertilizers on the mean square of traits of gerbera platlets cv. Sunway

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزاد df	طول دم‌برگ Petiole length	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن تر برگ Leaf fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	حجم ریشه Root volume	طول ریشه Root length	تعداد ریشه Root no.	تعداد برگ Leaf no.	درصد برگ نکروزه شده Necrotic leaf percentage	درصد برگ سالم Healthy leaf percentage
تیمار Treatment	2	4.00*	0.31**	16.85**	0.07**	1.69**	304.03**	0.22 ^{ns}	6.10*	3.10 ^{ns}	847.64*	955.82*
Error خطا	27	0.93	0.02	0.64	0.009	0.31	44.94	0.65	1.57	2.74	178.86	188.38

***، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معنی دار.
***, * and ns: significant at 1%, 5% and non-significant, respectively.

گردید که در برخی از گیاهچه‌های تحت تیمار علائم نکروز برگ‌گی دیده می‌شود. لذا این پارامتر نیز از لحاظ آماری مورد ارزیابی قرار گرفت. گیاهچه‌هایی که تحت تیمار غلظت‌های ۰/۵x و ۱x تیمار کودی گروه دو قرار گرفته بودند، بیشترین میزان نکروز برگ‌گی را از خود نشان دادند. کاربرد غلظت ۱/۵x تیمار کودی گروه دو منجر به کاهش ۴۰ درصدی علائم نکروز برگ‌گی در مقایسه با غلظت ۰/۵x شد. همچنین بالاترین درصد برگ‌های سالم نیز در غلظت ۱/۵x تیمار کودی گروه دو حاصل شده که تفاوت معنی‌داری با غلظت‌های ۰/۵x و ۱x از خود نشان داد (جدول ۶).

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر میزان کلروفیل a تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۷). بیشترین میزان کلروفیل a در غلظت ۱x تیمار کودی گروه منتخب مشاهده شد ولی با این حال تفاوت معنی داری با غلظت ۱/۵x تیمار کودی منتخب نداشت. غلظت ۰/۵x نیز کمترین میزان این صفت را به خود اختصاص داد. بررسی میزان کلروفیل b در نمونه‌های مورد آزمایش نشان داد که بیشترین میانگین این صفت در غلظت ۱x تیمار کودی گروه دو حاصل شد. میزان کلروفیل b در غلظت ۱x تیمار کودی گروه دو به میزان ۶۰ درصد در مقایسه با غلظت ۰/۵x تیمار

همچنین توزین گیاهچه‌های مورد آزمایش نشان داد که بیشترین و کمترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب در غلظت‌های ۱/۵x و ۰/۵x تیمار کودی گروه دو به دست آمد. به بیان دیگر با افزایش غلظت تیمار کودی گروه دو، وزن تر و خشک اندام هوایی افزایش یافت (جدول ۶).

علاوه بر این نتایج مندرج در جدول ۱ نشان می‌دهد که وزن تر و خشک ریشه تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفتند. کاربرد غلظت های ۱x و ۱/۵x تیمار کودی منتخب، تفاوت معنی‌داری را از لحاظ وزن تر ریشه با غلظت ۰/۵x ایجاد نمود.

بیشترین میزان وزن خشک ریشه در غلظت ۱/۵x تیمار کودی گروه دو مشاهده شد که با سایر تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری را از خود نشان داد، به‌طوری‌که وزن خشک ریشه در این تیمار کودی نزدیک به دو برابر بیشتر از میزان اندازه‌گیری شده در غلظت ۰/۵x بود. اندازه‌گیری حجم و تعداد ریشه تولیدی گیاهچه‌های رشد یافته نشان داد که بیشترین میانگین‌های مرتبط با این صفات در غلظت‌های ۱x و ۱/۵x تیمار کودی گروه دو حاصل شد که تفاوت معنی‌داری را با غلظت ۰/۵x از خود نشان دادند (جدول ۶).

در پایان آزمایش پس از شمارش تعداد برگ‌های تولیدی، مشاهده

مشاهده شد که احتمالاً بروز این علائم بیش از آنکه به دلیل کاهش غلظت عناصر غذایی باشد، به دلیل افزایش pH بستر کشت و به دنبال آن عدم توانایی گیاه در جذب آهن از بستر کشت می باشد (۳۶). در مطالعه حاضر نیز کمترین میزان کلروفیل a و b در تیمار کودی ۰/۵x مشاهده شد که کمترین میزان EC (۰/۶۵ ms/cm) را به خود اختصاص داده بود و کاربرد محلول های غذایی با EC بالاتر نتایج مطلوبی را در رابطه با صفات مورد ارزیابی در پی داشت. از آنجا که عمده ترکیبات رنگدانه های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی می باشند، بنابراین کاربرد نیتروژن می تواند تا حد زیادی منجر به افزایش میزان آنها در گیاه گردد (۳۵). به عقیده برخی از محققین همبستگی زیادی بین کلروفیل برگ و غلظت نیتروژن برگ وجود دارد (۳۴). بنابراین افزایش غلظت تیمار کودی از ۰/۵x به ۱x، منجر به افزایش دو برابری غلظت عناصر غذایی از جمله نیتروژن می گردد که این امر نیز به نوبه خود تاثیر مثبتی بر افزایش میزان کلروفیل برگ خواهد داشت. در پژوهش حاضر کاهش جزئی در میزان کلروفیل با افزایش غلظت تیمار کودی از ۱x به ۱/۵x نیز مشاهده شد که با نتایج پژوهش وان ایرد و همکاران (۳۳) مطابق می باشد، زیرا نیتروژن اضافی اغلب منجر به افزایش رشد رویشی گیاه شده که فراورده های فتوسنتزی گیاه را به مصرف می رساند و در نهایت به کاهش عملکرد منجر می گردد (۳۳).

در تحقیقی تاثیر کاهش غلظت عناصر محلول غذایی بر پارامترهای رشدی گیاه ژربرا برای مینیاتور مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد کیفیت گیاهان تحت تاثیر کاهش ۲۰ درصدی غلظت عناصر غذایی قرار نگرفت و کاربرد محلول غذایی با EC پایین تر (۱/۶ ms/cm) تغییرات چشم گیری را در سیستم ریشه ای گیاه ایجاد نکرد. همچنین وضعیت تغذیه ای گیاه ژربرا نیز رضایت بخش بود (۳).

کودی منتخب افزایش یافت که این امر نشان دهنده تاثیر مطلوب افزایش غلظت تیمار کودی منتخب می باشد. میزان کلروفیل کل که از مجموع کلروفیل a و b حاصل می گردد، روند تقریباً مشابهی را از خود نشان داد (شکل ۵).

در رابطه با میزان کاروتنوئید نیز تاثیر تیمارها معنی دار بود (جدول ۷). نمونه های رشد یافته تحت تاثیر غلظت ۱x تیمار کودی گروه دو بیشترین میانگین کاروتنوئید را به خود اختصاص دادند. با این حال تفاوت معنی داری با غلظت ۱/۵x تیمار کودی منتخب نداشت. کمترین میزان این پارامتر نیز در غلظت ۰/۵x مشاهده شد (شکل ۵). بر اساس تحقیقات سانول و همکاران (۳۲) ژربرا جزو گیاهانی طبقه بندی می گردد که به EC محلول غذایی حساس می باشد. لذا نیاز است که در رابطه با ارقام متفاوت گیاه ژربرا، با توجه به پتانسیل ژنتیکی هر رقم، مدیریت تغذیه متفاوتی صورت گیرد (۱۸)، که این امر با تنظیم EC محلول غذایی امکان پذیر می باشد. در واقع تنظیم EC محلول های غذایی به پرورش دهندگان محصولات زینتی این امکان را می دهد که راندمان مصرف آب را بهبود بخشند. به این ترتیب میزان آب قابل دسترس گیاه به نحوی مطلوب تغییر می یابد که جذب عناصر غذایی متعادل شده و این موضوع در نهایت تعادل رشد رویشی و زایشی را به دنبال خواهد داشت (۱۲).

در مطالعه انجام شده بر روی گیاه ژربرا مشخص گردید گیاهانی که به میزان ۱۰٪ و ۲۵٪ محلول غذایی را دریافت کرده بودند، از لحاظ میزان سبزیگی و شاخص کلروفیل، اختلاف معنی داری را با تیمارهای کودی ۵۰٪ و ۱۰۰٪ از خود نشان دادند. همچنین یک رابطه خطی مثبت بین غلظت محلول غذایی و محتوای آهن برگ مشاهده شد. در برگ های جوان گیاهانی که با تیمار کودی ۱۰٪ و ۲۵٪ محلول غذایی تغذیه شده بودند، علائم زردی بین رگبریگی

جدول ۶- تاثیر غلظت های مختلف تیمار کودی گروه دو بر برخی از صفات مورد ارزیابی در گیاهچه کشت بافتی ژربرا رقم Sunway

Table 6- Effect of different concentrations of second group fertilizer on some of the traits of gerbera plantlet cv. Sunway

غلظت تیمار کودی Fertigation treatment concentration	طول دمبرگ Petiole length (cm)	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	حجم ریشه Root volume (cm ³)	تعداد ریشه Root No.	برگ های سالم Healthy leaf (%)	برگ های نکروزه شده Necrotic leaf (%)
0.5x	10.30 b	2.27 c	0.44 b	1.95 b	0.20 b	2.31 b	7.2 b	44.38 b	53.95 a
1x	11.10 ab	3.71 b	0.69 a	2.63 a	0.28 b	3.27 a	8.6 a	47.31 b	52.68 a
1.5x	11.55 a	4.86 a	0.78 a	2.68 a	0.38 a	3.26 a	8.5 a	62.59 a	37.41 b

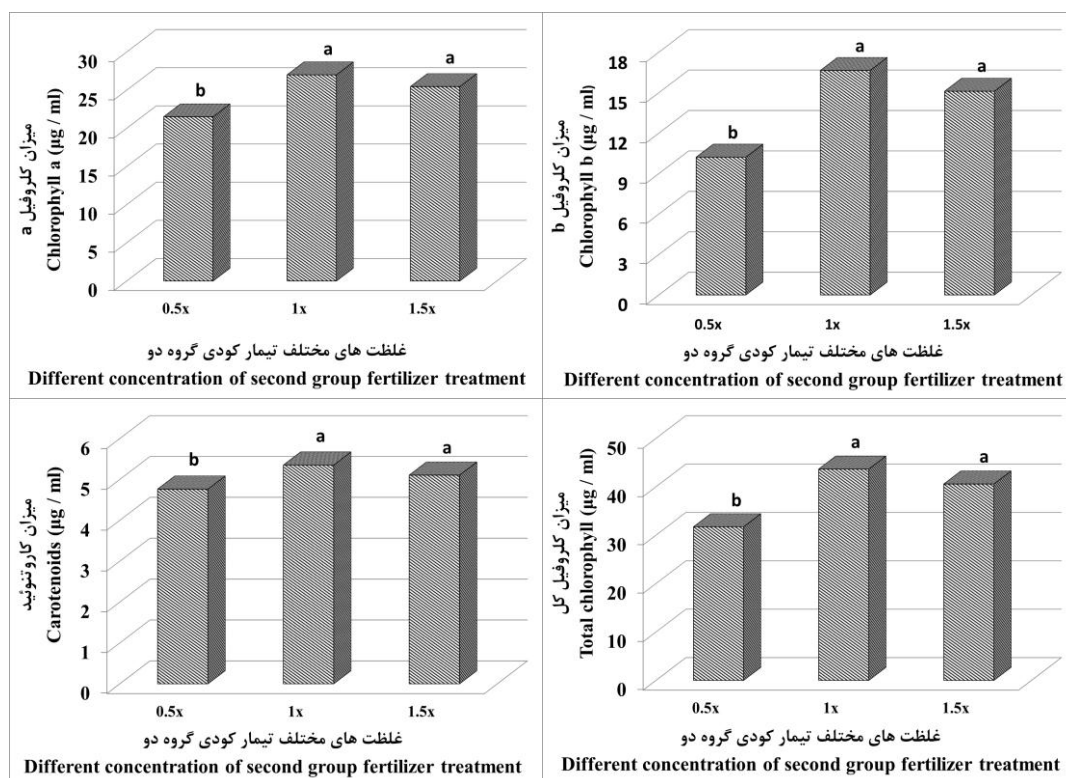
میانگین های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at probability level of 5% based on LSD test.

جدول ۷- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف تیمار کودی بر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی گیاهچه کشت ژبرای رقم Sunway
Table 7- ANOVA for the effects of different concentration of fertilizer on the mean square of traits of gerbera plantlet cv. Sunway

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
S.O.V	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoids
Treatment تیمار	2	120.16**	169.18**	574.25**	1.30**
خطا	27	3.52	2.81	11.78	0.07
Error					

***، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معنی‌دار.
***, * and ns: significant at 1%, 5% and non-significant, respectively.



شکل ۵- اثر تیمارهای کودی مختلف بر میزان کلروفیل کل، a، b و کاروتنوئید در گیاهچه کشت ژبرای رقم Sunway (LSD, p ≤ 0.05)
Figure 5- Effect of different fertilizer treatments on total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid contents in gerbera plantlet cv. Sunway (LSD, p ≤ 0.05)

نمک‌های موجود در محلول غذایی هوگلند بسیار بالا می‌باشد (۹)، لذا طبیعی به نظر می‌رسد که غلظت‌های بالای این محلول تاثیر مطلوبی بر پارامترهای رشدی گیاه ژبرای نخواهد داشت.

در مطالعه انجام شده توسط پالانیسمی و همکاران (۲۵) بر روی گیاه ژبرای، تاثیر غلظت‌های مختلف تیمار کودی $15:10:30 \text{ grNPK/m}^2/\text{month}$ به همراه اسپری برگی عناصر ریزمغذی (0.04%) و اسید هیومیک (0.2%) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که صفات مورفولوژیکی نظیر ارتفاع گیاه، تعداد برگ، سطح برگ، کانوبی گیاه، تعداد پاجوش و تراکم گیاه در مراحل مختلف رشد، در غلظت 100% تیمار کودی به همراه اسپری برگی

نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که ژبرای کشت بافتی پرورش یافته در تیمار کودی $1/5x$ با هدایت الکتریکی $1/64$ میلی زیمنس بر سانتی متر از لحاظ پارامترهای رشدی وضعیت مطلوبی را از خود نشان داد که با یافته‌های پژوهش برس و همکاران (۳) منطبق می‌باشد.

بررسی غلظت‌های مختلف محلول هوگلند (25% ، 50% ، 75% ، 100% و 125%) بر پارامترهای رشدی گیاه ژبرای نشان داد که بیشترین میزان وزن تر و خشک کل گیاه و وزن خشک برگ در غلظت 25% محلول هوگلند حاصل شد که هدایت الکتریکی آن برابر با $0/99$ میلی زیمنس بر سانتی‌متر بود (۲۴). از آنجا که غلظت

بود و گیاه تقریباً تمامی محلول غذایی که به صورت روزانه در اختیارش قرار گرفته بود را جذب می‌کرد. در پژوهش حاضر نیز کاربرد غلظت‌های مختلف تیمار کودی گروه دو منجر به تجمع نمک در بستر کشت نگردید. کمترین میزان کلروفیل و بیشترین درصد نکروز برگی در گیاهان تیمار شده با غلظت $0.5 \times$ تیمار کودی گروه دو مشاهده شد. لذا به نظر می‌رسد غلظت نمک‌های موجود در این تیمار کودی کمتر از میزان نیاز گیاه می‌باشد که منجر به بروز این علائم گردیده است، درحالی‌که گیاهان تیمار شده با غلظت $1/5 \times$ تیمار کودی گروه دو، بیشترین میانگین تعداد برگ سالم و کمترین درصد نکروز برگی را به خود اختصاص دادند که این امر نشان دهنده تاثیر بسیار مطلوب این تیمار کودی می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که نسبت‌های متفاوت PK تاثیرات متفاوتی بر پارامترهای رشدی مورد ارزیابی در گیاهچه‌های کشت بافتی ژبربا داشت. گیاهچه‌های رشد یافته تحت تیمار کودی گروه دو بهترین پاسخ رشدی را از لحاظ صفات رشدی مورد ارزیابی از خود نشان دادند. لذا تیمار کودی گروه دو (با مقادیر $7/99$ میلی‌مولار نیتروژن، $1/06$ میلی‌مولار فسفر و $4/77$ میلی‌مولار پتاسیم) جهت سازگاری مطلوب‌تر گیاهچه‌های ژبربا توصیه می‌گردد. نتایج مرحله دوم آزمایش نشان داد که غلظت $1/5 \times$ تیمار کودی گروه دو غلظتی مناسب برای تغذیه گیاهچه‌های کشت بافتی ژبربا می‌باشد تا از این طریق بتوان کارایی مصرف کود را افزایش داد و همچنین آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی را کاهش داد.

عناصر ریزمغذی و اسید هیومیک افزایش یافت که البته در این پژوهش اشاره ای به EC محلول غذایی نشده است.

ارزیابی سطوح مختلف هدایت الکتریکی ($1, 2, 3, 4$ و 5 میلی زیمنس بر سانتی متر) بر پارامترهای رشدی گیاه ژبربا نشان داد که سطوح مختلف EC تاثیر معنی‌داری بر تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی نداشت. یک رابطه همبستگی منفی (-0.85) بین تعداد برگ و سطوح EC مشاهده شد که نشان می‌دهد با افزایش میزان EC، تعداد برگ کاهش می‌یابد که دلیل آن می‌تواند تاثیر منفی غلظت‌های بسیار بالای عناصر غذایی بر گیاه باشد. به طور کلی، پارامترهای رشدی به میزان اندک تحت تاثیر غلظت محلول غذایی قرار گرفت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش در محتوای عناصر غذایی به عنوان تابعی از افزایش میزان EC، جذب لوکس مواد غذایی بدون ایجاد تغییرات محسوس در صفات کیفی رخ می‌دهد (23) که جهت تولید اقتصادی توصیه نمی‌گردد. البته باید این نکته را در نظر گرفت که در این پژوهش از غلظت‌های بسیار بالای محلول غذایی با هدف ردیابی عناصر غذایی در گیاه استفاده شده است که با جستجو در منابع اطلاعاتی می‌توان دریافت که کاربرد چنین غلظت‌هایی جهت پرورش گیاه ژبربا منطقی به نظر نمی‌رسد.

نتایج پژوهش لودویگ و همکاران (17) بر روی گیاه ژبربا نشان داد کاربرد محلول غذایی با EC بالاتر ($2/04 \text{ ms/cm}$) منجر به تجمع نمک در بستر کشت گردید ولی علائمی از سمیت در گیاه دیده نشد. غلظت نمک‌های موجود در این محلول غذایی بیشتر از سطح نیاز گیاه بود و در نتیجه تمامی آن توسط گیاه جذب نگردید. نتایج این پژوهش نشان داد که کوددهی روزانه منجر به افزایش تجمع نمک در بستر کشت گردید که به دنبال آن EC بستر نیز افزایش یافت ولی در محلول غذایی با EC پایین‌تر ($1/07 \text{ ms/cm}$) تجمع نمک مشاهده نشد، چرا که غلظت نمک‌های موجود در این محلول غذایی پایین‌تر

منابع

1. Amin, N., Sajid, M., Sajid, M., Qayyum, M.M., Shah, S.T. and Fazl-i-Wahid, R.S.H., 2015. Response of gerbera (*Gerbera jamesonii*) to different levels of phosphorus and potassium. *International Journal of Biosciences*, 7(4), pp.1-11.
2. Bellubbi, S.B., Kulkarni, B.S. and Patil, C.P., 2015. Effect of integrated nutrient management on growth and flowering of gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) under naturally ventilated polyhouse condition. *International Journal of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine*, 1(1): 69-74.
3. Bres, W., Kozłowska, A. and Walczak, T., 2013. Effect of nutrient solution concentration on yield and quality of gerbera grown in perlite. *Journal of Elementology*, 18(4): 577-588.
4. CH, S.R.S. and Prabhakar, N., 2018. Effect of nutrient deficiencies on growth of gerbera through solution culture. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 7(3): 247-252.
5. Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, R., and Chandra, R. (2010). Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnol Lett*, 32:1199-1205.
6. Darwesh, R, S, S. (2015). Morphology, physiology and anatomy in vitro affected acclimatization ex vitro date palm plantlets: A Review. *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences*, 3(2): 183-190.
7. FAOSTAT: Fertilizers by Product. <https://knoema.com/FAORFBFP/faostat-fertilizers-by-product>. Published by

- source: 28 March 2019.
8. floranceflora.com/wp-content/themes/codewave/GerberaGrowingManual.pdf.
9. Forde, B.G. and Clarkson, D.T., 1999. Nitrate and ammonium nutrition of plants: physiological and molecular perspectives. In *Advances in botanical research*, 30: 1-90. Academic Press.
10. Hahn, E.J., Jeon, M.W., and Paek, K.Y. 1999, August. Culture method and growing medium affect growth and flower quality of several Gerbera cultivars. In *International Symposium on Growing Media and Hydroponics* 548 (385-392).
11. Kacperska, I., 1985. Effect of quantity of NPK fertilizer doses on the yield of gerbera cv. Peter. *Experimental Work of the Institute of Pomology and Floriculture. Ser. B-Ornamental Plants*.
12. Karimi Afshar, A., Delshad, M., and Bablar, M. 2009. Study on the possibility of substituting nutrient solution with variable EC instead of nutrient solution with fixed EC in tomato aquaculture. *Journal of Iranian Horticultural Science*, 40 (2): 37-44 (In Persian).
13. Kavanová, M., Lattanzi, F.A., Grimoldi, A.A. and Schnyder, H., 2006. Phosphorus deficiency decreases cell division and elongation in grass leaves. *Plant Physiology*, 141(2): 766-775.
14. Khalaj, M., Kiani, Sh., Khosh Gofar Manesh, A., and Amoo Aghaei A., R. 2016. The effect of different commercial nutrient solutions on yield and quality of two gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) cut flower cultivars grown in soilless culture system. *Journal of Greenhouse Crop Science and Technology*, 7 (4): 135-147 (In Persian).
15. Khalaj, M.A., M. Amiri and S.S. Sindhu. 2011. Response of different growing media on the growth and yield of gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) in hydroponic open system. *Indian journal of horticulture*, 68(4): 583-586.
16. Kumar, S. and Kanwar, J.K. 2006. Regeneration ability of petiole, leaf and petal explants in gerbera cut flower cultures *in vitro*. *Folia Horticulturae*, 18: 57-64.
17. Ludwig, F., Fernandes, D.M., Mota, P.R. and Boas, R.L.V., 2013. Electrical conductivity and pH of the substrate solution in gerbera cultivars under fertigation. *Horticultura Brasileira*, 31(3): 356-360.
18. Ludwig, F., Fernandes, D.M., Mota, P.R. and Villas Boas, R.L., 2008. Macronutrientes em cultivares de gerbera sob dois níveis de fertirrigação. *Horticultura Brasileira*, 68-73.
19. Maloupa E. and D. Gerasopoulos. 1999. Quality production of four cut gerberas in a hydroponic system of four substrates. *Acta Horticulturae*, 486: 433-438.
20. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, Academic Press Inc. San Diego, CA 92101.
21. Mollasini, H., Banayi, A., Abdul Baghi, M., and Seil Seper, M. 2007. Optimal usage of macro elements in hydroponic culture of gerbera. The first technical workshop to improve water use efficiency by cultivating greenhouse crops. Karaj, October 18, 2007 (In Persian).
22. Morgan, L. 2006. Hydroponic strawberry production. Publisher: Suntec Ltd, 118 p.
23. Mota, P.R.D.A., Fernandes, D.M. and Ludwig, F., 2016. Development and mineral nutrition of gerbera plants as a function of electrical conductivity. *Ornamental Horticulture*, 22(1): 37-42.
24. Nascimento, J.G. 2018. Malhas coloridas de sombreamento e solucoes nutritivas de fertirrigacao na cultura da gerbera (*Gerbera jamesonii*) em ambiente protegido (Doctoral dissertation, Universidade de Sao Paulo).
25. Palanisami, I. Kannan, D., Rishu, S., Bhatt, S.S. and Abhay, S., 2015. Fertigation studies on Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker F.) for growth and yield under cover in southern hills (Shevaroy). *International Journal of Tropical Agriculture*, 33(1): 31-36.
26. Paradikovic, N., Mustapic-Karlic, J., Teklic, T., Cesar, V., Vinkovic, T., Lisjak, M., Spoljarević, M. and Iljkic, D., 2008. The Role of Light Regime and Substrate in Photosynthetic Pigments, free Proline content and Flower Quality of *Gerbera jamesonii* L. *Poljoprivreda (Osijek)*, 14(2), 17-22.
27. Resh, H.M. 1991. Hydroponic food production: A Definitive Guidebook of Soilless Food Growing Methods, 3rd ed. Woodbridge Press Publishing Co., ISBN 0-88007-171-0, California, 462 pages.
28. Savvas D., V. Karagianni, A. Kotsiras, V. Demopoulos, I. Karkamisi, and P. Pakou. 2003. Interactions between ammonium and pH of the nutrient solution supplied to gerbera (*Gerbera jamesonii*) grown in pumice. *Plant and Soil*. 254: 393-402.
29. Savvas, D. and Gizas, G., 2002. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different nutrient cation ratios. *Scientia Horticulturae*, 96(1): 267-280.
30. Schwarz, D., van Iersel, M.W., Ingram, K.T. and Klaring, H.P., 2001. Nutrient solution concentration effects on growth and photosynthesis of tomato grown hydroponically. In *Plant nutrition* (pp. 432-433). Springer, Dordrecht.
31. Sirin, U. 2011. Effects of different nutrient solution formulations on yield and cut flower quality of gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) grown in soilless culture system. *African Journal of Agricultural Research* 6(21): 4910-4919.
32. Sonneveld, C., Baas, R., Nijssen, H.M.C. and De Hoog, J., 1999. Salt tolerance of flower crops grown in soilless culture. *Journal of Plant Nutrition*, 22(6): 1033-1048.
33. Van Eerd, L. L. and Zandstra, J. W. 2007. Enhancing sugar beet storage quality. University of Guelph Ridgetown

- Campus. Agriculture and Agri -Food Canada.
34. Vidal, I., L. Longeri, and J. M. Hétier. 1999. Nitrogen uptake and chlorophyll meter measurements in spring wheat, *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 55: 1–6.
 35. Zgallai, H., K. Steppe, and R. Lemeur. 2006. Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti oxidative enzymes in Tomato plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(6): 679-685.
 36. Zheng, Y., Graham, T., Richard, S. and Dixon, M., 2004. Potted gerbera production in a subirrigation system using low-concentration nutrient solutions. *Hort Science*, 39(6), 1283-1286.



The Role of Various Fertilizer Formulations on *in vitro* Derived Gerbera Plantlets (*Gerbera jamesonii*) during Acclimatization Phase

A. Sharifi¹- M. Kharrazi^{2*}- S. Nejatizadeh³- A. Khadem⁴- M. Moradian⁵

Received: 02-02-2019

Accepted: 24-07-2019

Introduction: In traditional agriculture, a high concentration of nutrients is generally available to the plant, and a large amount of it will be leached out and is not available to the plant. But, if properly managed, the nutritional needs of the plant can be identified; it can increase the efficiency of fertilizer use and also prevent the environmental pollution caused by excessive use of chemical fertilizers in the country. Therefore, the aim of this study was to increase the fertilizer utilization efficiency by choosing optimal fertilizer treatment and its optimum level for acclimation and optimum growth of gerbera tissue culture plantlets.

Material and methods: In the first experiment, different fertilizer treatments with different proportions of NPK were evaluated in a completely randomized design with 10 replications. In the second experiment, the different concentrations of the secondary group treatment (0.5x, 1x and 1.5x) were evaluated to determine the optimum level of fertilizer treatment. This experiment also was conducted in a completely randomized design with 15 replications. At the end of each experiment different parameters such as leaf number, petiole length, shoot dry and fresh weight, main root number, root length, secondary root number, root volume, root dry and fresh weight, chlorophyll a, b and total content were measured. Data preparation was done in Excel and data analysis was performed using the Jump 8 software. Mean comparison between treatments was performed with LSD test at 5% probability level and charts were drawn using Excel program.

Results and discussion: The results showed that the maximum root length, root volume, root dry and fresh weight and secondary root number was obtained from plantlets that was treated by the fertilizer treatment of the second group: K₂SO₄ (0.22 mM), KNO₃ (3.62 mM), KH₂PO₄ (0.71 mM), NH₄H₂PO₄ (0.35 mM), NH₄NO₃ (0.53 mM), Ca(NO₃)₂·4H₂O (1.48 mM), MgSO₄·7H₂O (0.4 mM), MnCl₂·4H₂O (0.0049 mM), H₃BO₃ (0.020 mM), ZnSO₄ (0.0061 mM), CuSO₄·5H₂O (0.00048 mM), NaMoO₄·2H₂O (0.00058 mM), FeSO₄·7H₂O (0.0348 mM), Na₂EDTA (0.0384 mM). So among the different fertilizer treatment, application of the fertilizer treatment of the second group was recommended. Calculation of nitrate and ammonium content used in six fertilizer treatments showed that the amount of ammonium used in fertilizer had a significant effect on root number and root dry weight. The maximum root number and root dry weight were observed in the second fertilizer group and then in the first fertilizer group. Urea was not used as a source of nitrogen in the fertilizer formula of these two treatments, while in other fertilizer treatments; urea fertilizer was used in addition to other sources of nitrogen supply. Since urea is converted into ammonium before its absorption by the plant, its application in the fertilizer formula has an effect on the amount of ammonium used in the fertilizer composition. It increases the ratio of ammonium to nitrate in fertilizer composition, which in turn influences root function. The ratio of potassium to phosphorus in the research of Khalaj et al. (4.40) is approximately as the same as the ratio of potassium to phosphorus used in the second group fertilizer treatment (4.50). The results of this ratio were also corresponded to Zheng et al. (4.6), Paradikovic et al (4.4), Hahn et al (4), Savvas and Gizas (4.8). The results of second experiment showed that plantlets grown under 1.5x concentration of second group fertilizer had better growth indices than two other treatments and had higher means in terms of root and shoot dry weight and petiole length. After counting the number of produced leaves at the end of the experiment, signs of leaf necrosis was observed under some treatments. Plantlets treated with 1 and 0.5 x concentrations of the second group treatment showed the highest incidence of leaf necrosis. Application of 1.5 x concentration of the second group treatment resulted in a 40% decrease in leaf necrosis symptoms compared to the other treatments. Also, the highest percentage of healthy leaves was obtained from 1.5 x concentration of the second group treatment, which showed a significant difference with the other treatments.

1, 2, 4 and 5- Assistant Professors and Instructors, Research group of Ornamental Plants Biotechnology, Department of Industrial Biotechnology, Khorasan Razavi Branch of Academic Center of Education, Culture and Research

3- PhD Student of Agricultural Biotechnology, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

(*- Corresponding Author Email: ma_kh230@yahoo.com)

Conclusion: Generally, for the purpose of acclimation and optimal growth of gerbera tissue culture plantlets, fertilizer treatment of the second group {15(N), 10(P₂O₅), 30(K₂O), 11.10(CaO), 2.10(MgO)} at a concentration of 1.5x is recommended.

Keywords: Different concentrations of fertilizer treatment, Growth indices, NPK ratios, Nutrition requirements.



بررسی تاثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه‌های رشد، عملکرد و میزان اسانس گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.)

علی رضایی^۱ - محمدتقی عبادی^{۲*} - حسن پیرانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹

چکیده

تولید ارگانیک یکی از ارکان مهم صنعت گیاهان دارویی است و استفاده از کودهای آلی در این مبحث بسیار مورد توجه می‌باشد. امروزه عصاره جلبک‌های دریایی به عنوان یک کود آلی به منظور افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی و همچنین مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده می‌شود. مرزه یکی از گیاهان دارویی و ادویه‌ای است که سطح زیر کشت بالایی در کشورمان جهت مصارف غذایی و دارویی دارد. به منظور بررسی اثر محلول پاشی غلظت‌های مختلف کود آلی جلبک دریایی بر روی شاخصه‌های رشد، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، درصد و عملکرد اسانس گیاه مرزه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل محلول پاشی سطوح مختلف غلظت کود جلبک دریایی شامل مقادیر صفر (شاهد)، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر به میزان سه مرتبه در طول فصل رشد بود. نتایج حاصل از اندازه‌گیری متغیرهای رشدی نشان داد که غلظت‌های مختلف کود جلبک دریایی استفاده شده در این آزمایش بر صفات تعداد شاخه‌های فرعی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، طول و عرض برگ، ارتفاع بوته و شاخص اسپد در سطح احتمال یک درصد تاثیر معنی‌داری داشت. همچنین سطوح مختلف کود جلبک دریایی بر صفات وزن تر اندام هوایی، درصد و عملکرد اسانس در سطح احتمال ۵ درصد تاثیر معنی‌داری داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین مقدار برای صفات تعداد شاخه‌های فرعی (۳۵/۴۴ عدد در بوته)، طول و عرض برگ (۴۳/۲۲ و ۸/۰۷ میلی‌متر)، قطر ساقه (۵/۰۰ میلی‌متر)، وزن تر و خشک ریشه (به ترتیب ۱۵/۱۷ و ۶/۴۲ گرم)، وزن تر و خشک اندام هوایی بوته (۱۸۱/۰۱ و ۳۷/۶۹ گرم)، شاخص اسپد (۴۸/۱۳) مربوط به تیمار کاربرد ۱۰ میلی‌لیتر کود جلبک دریایی و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. همچنین بیشترین ارتفاع بوته (۵۴/۶۶ سانتی‌متر) و درصد و عملکرد اسانس به ترتیب به میزان ۲/۵۱ درصد و ۶/۲۸ گرم در متر مربع مربوط به تیمار ۵ میلی‌لیتر کود جلبک دریایی بود. به‌طور کلی و با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان عکس‌العمل گیاه دارویی مرزه را به کاربرد کود آلی جلبک دریایی به ترتیب در سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر در لیتر مثبت ارزیابی نمود و آن را در برنامه توصیه کودی کشاورزان قرار داد.

واژه‌های کلیدی: جلبک‌های دریایی، کود آلی، کشاورزی پایدار، گیاهان دارویی، مرزه

مقدمه

اصلی آن عبارتند از: تیمول، کارواکرول، پاراسیمین و گاماترینین (۴۱). مرزه یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای است که در کشورهای نظیر فرانسه، اسپانیا، آمریکا و مجارستان در سطوح وسیعی کشت و کار می‌گردد (۳۰). مرزه به عنوان گیاه چند منظوره کشت می‌شود و از آن به عنوان گیاه دارویی، سبزی و همچنین ادویه بهره‌برداری می‌گردد، به‌طوری که از اندام رویشی و تازه این گیاه برای مصارف سبزی، از برگ‌های خشک شده به عنوان ادویه و تهیه دمنوش و جوشانده و همچنین از اسانس آن در صنایع کنسروسازی و نوشابه‌سازی به عنوان طعم‌دهنده استفاده می‌گردد. این گیاه دارای اثرات درمانی زیادی می‌باشد که برخی از آنها عبارتند از: تسهیل کننده عمل هضم، مقوی معده، رفع گلو درد و تهوع و ضد کرم. اسانس مرزه دارای فعالیت ضدباکتریایی بوده و مانع رشد برخی از

گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است و در حال حاضر در سراسر دنیا کشت و کار می‌گردد (۶ و ۱۹). مرزه گیاهی است علفی، یک‌ساله، با ساقه‌های منشعب به صورت چهارگوش و مستقیم که ارتفاع آن حدود ۳۰ سانتی‌متر می‌باشد. گل‌ها و برگ‌ها معطر بوده و حاوی اسانس می‌باشند (۳۰). اسانس مهمترین ماده موثره این گیاه است که اجزای

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(Email: mt.ebadi@modares.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.78699

(*)- نویسنده مسئول

آن‌ها می‌شود. همچنین دارای خواص ضد قارچی، ضدالتهای و فعالیتی آنتی‌اکسیدانی بسیار بالایی است (۵، ۱۸، ۲۷ و ۳۱).

عوارض نامطلوب استفاده از داروهای شیمیایی بر کسی پوشیده نیست و این موضوع توجه به استفاده از گیاهان دارویی را چندین برابر کرده است. به لحاظ اینکه فلات ایران به عنوان منشأ بسیاری از گیاهان دارویی معرفی شده است و با توجه به نیازهای روزافزون صنایع غذایی و دارویی کشور به مواد اولیه، کشت و پرورش گیاهان دارویی در کشور نیازمند تحقیقات و مطالعات بیشتری است (۳۰). در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران، استفاده از گیاهان دارویی با توجه به ظرفیت‌های خاص اقلیمی یکی از روش‌های دستیابی به کشاورزی پایدار است و موجب حفظ سلامت جامعه نیز می‌گردد (۴). اگرچه تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی تحت کنترل فرایندهای ژنتیکی است اما عوامل محیطی تاثیر بسزایی بر روی آنها دارد (۲۱). از جمله عوامل محیطی تاثیرگذار بر رشد کمی و کیفی گیاهان می‌توان به نوع تغذیه اشاره نمود (۴۰). مدیریت تغذیه یک عامل اصلی در موفقیت کشت و پرورش گیاهان دارویی از نظر عملکرد کمی و کیفی به حساب می‌آید. رویکرد جهانی در نظام تولید گیاهان دارویی به سمت استفاده از کودهای آلی به‌منظور ارتقاء عملکرد کمی و کیفی آن‌ها می‌باشد (۳۸). در مناطق خشک و نیمه‌خشک به دلیل شرایط اقلیمی موجود، ماده آلی خاک به طور مداوم کاهش می‌یابد (۲۶) و به لحاظ این که استفاده از کودهای آلی جذب عناصر غذایی را از خاک افزایش می‌دهد، به‌طور مستقیم سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شده و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (۲۰). امروزه یکی از منابع جدید تولید کودهای آلی، جلبک‌های دریایی می‌باشند. جلبک‌های دریایی دارای تنوع و فراوانی بسیار زیادی هستند به‌طوری‌که در حدود ۳۲۰ گونه از خانواده‌های مختلف آن توسط محققین مختلف در قسمت‌های شمالی، غربی و جنوبی سریلانکا شناسایی شده‌اند (۱۲). جلبک‌های دریایی عموماً در آب‌های کم‌عمق دریاها و آب‌های زیرزمینی وجود دارند و عصاره آن‌ها حاوی هورمون‌هایی از قبیل اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها است و اخیراً مقادیر جزئی از برازینواستروئیدها، جاسمونات‌ها و سالیسیلیک اسید نیز در آن گزارش شده است. به‌علاوه جلبک‌های دریایی حاوی عناصر ریزمغذی مانند آهن، کبالت، منیزیم، مولیبدن، روی و نیکل است و دارای ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه نیز می‌باشد (۱۴).

تحقیقات نشان داده است که عصاره جلبک‌های دریایی سبب تحریک رشد و عملکرد گیاهان شده و باعث افزایش مقاومت آن‌ها به انواع استرس‌های محیطی می‌گردد (۳۴). در برخی کشورهای در حال توسعه به منظور افزایش عملکرد محصولات مختلف حدوداً ۲ تا ۱۰ درصد از عصاره جلبک دریایی را در ترکیب با کود کامل (NPK) استفاده می‌کنند (۸). گزارشات مختلفی وجود دارد که نشان می‌دهند

محلول‌پاشی عصاره‌ی جلبک دریایی اثر قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاهان از قبیل توت‌فرنگی، کلازا و کاج ساحلی دارد (۲). همچنین استفاده از عصاره‌ی جلبک دریایی موجب افزایش ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد پنجه، وزن ساقه و ریشه در گیاه برنج شده است (۳۳). طبق گزارشات موجود محلول‌پاشی عصاره طبیعی جلبک دریایی سبب افزایش عناصر غذایی نظیر Fe, N, P, K, Ca, Zn و در میوه گوجه فرنگی شده است (۱۲). همچنین در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره جلبک قرمز بر صفات رویشی و عملکرد گیاه ارزن مرواریدی (*Pennisetum glaucum* L.)، مشخص شد که غلظت ۱۰ درصد از عصاره جلبک سبب افزایش قابل ملاحظه‌ای در رشد و عملکرد گیاه گردید (۳۳).

علی‌رغم اینکه تحقیقات فراوانی در بررسی تاثیر کودهای آلی بر روی محصولات کشاورزی انجام گردیده ولی در مورد اثرات این کودها بر کیفیت مواد موثره گیاهان دارویی اطلاعات اندکی موجود است (۱). بنابراین، با در نظر گرفتن اهمیت کشاورزی پایدار و همچنین لزوم تولید سالم گیاه مرزه جهت مصارف دارویی و غذایی، این آزمایش با هدف بررسی تاثیر سطوح مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه های رشد و عملکرد کمی و کیفی (اسانس) گیاه مرزه در شرایط آب و هوایی استان تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف کود آلی جلبک دریایی بر شاخصه‌های رشد، عملکرد کمی و تغییرات اسانس گیاه دارویی مرزه، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه، ۷۰ دقیقه و طول جغرافیایی ۵۱ درجه، ۴۰ دقیقه و ارتفاع ۱۲۰۰ متر از سطح دریا، در طی سال زراعی ۱۳۹۶ طراحی و اجرا گردید. بر اساس آمار و اطلاعات هواشناسی، منطقه مذکور دارای میانگین بارندگی ۲۴۶ میلی‌متر است و دارای آب‌وهوایی نیمه‌خشک می‌باشد. به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، نمونه‌برداری و آزمایش خاک صورت گرفت که نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر در جدول ۱ نشان داده شده است.

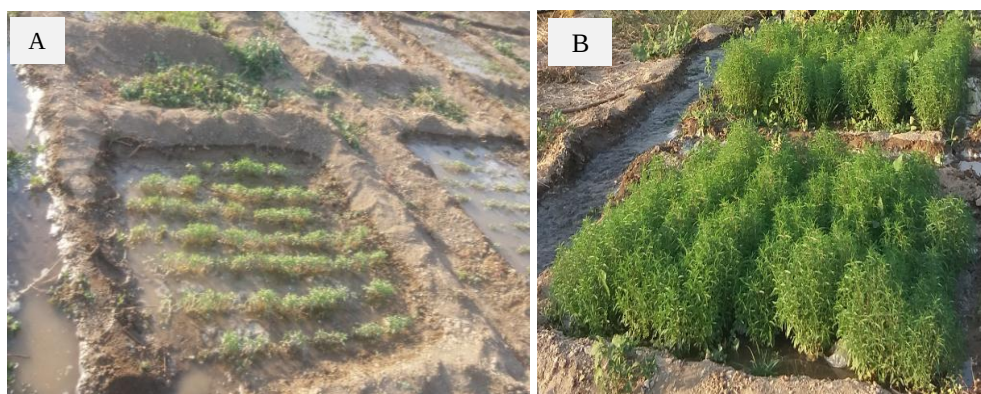
جهت آماده‌سازی زمین، عملیات خاک‌ورزی با استفاده از گاوآهن برگردان‌دار به عمق ۴۰ سانتی‌متر صورت پذیرفت و سپس کرت‌هایی با ابعاد ۲ × ۲ متر با فاصله نیم متر از یکدیگر آماده گردید. بذور مرزه (*Satureja hortensis* L.) مورد استفاده در این آزمایش از توده بومی ورامین تهیه شد که عمدتاً توسط کشاورزان استان تهران و البرز مورد کاشت و بهره‌برداری قرار می‌گیرد. عملیات کاشت در اواسط خرداد ماه به صورت دستی (کشت مستقیم بذر در زمین اصلی) انجام

شد و در هر کرت ۷ ردیف (فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ و فاصله گیاهان روی ردیف ۲۸-۳۰ سانتی متر) در نظر گرفته شد. تمامی کرت‌ها در شرایط یکسان آبیاری بودند و پس از سبز شدن کامل، عملیات وجین صورت پذیرفت و تراکم بوته در متر مربع به ۱۰ عدد رسانده شد (شکل ۱).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Physical and chemical properties of the soil

خصوصیات خاک Soil properties	بافت خاک Soil texture	EC (ds.m ⁻¹)	pH	ماده آلی Organic matter (%)	N (%)	P (mg.kg ⁻¹)	K (mg.kg ⁻¹)	Zn (mg.kg ⁻¹)	Mn (mg.kg ⁻¹)	Fe (mg.kg ⁻¹)	Cu (mg.kg ⁻¹)
مقدار Amount	لوم سیلتی Silt loam	2.61	7.51	0.57	0.08	68.8	269	0.86	8.91	4.17	1.09



شکل ۱- تصاویری از مراحل مختلف رشدی گیاه مرزه پس از وجین (A) و قبل از اعمال تیمارها (B)

Figure 1- Different growth stages of savory after weeding (A) and before treatment application (B)

با کود مایع جلبک دریایی به تعداد سه مرتبه در طول فصل رشد به فاصله زمانی هر ۱۰ روز صورت پذیرفت. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از محلول‌پاشی سه سطح کود جلبک دریایی شامل ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و شاهد (آب مقطر). برای محلول‌پاشی، غلظت مورد نیاز از محلول تهیه شده (بوسیله آب مقطر) و در اواخر روز در هنگام غروب آفتاب با استفاده از سمپاش دستی اعمال گردید که حجم مورد استفاده در حدود ۱/۵ لیتر محلول در هر مترمربع بود.

کود آلی (Bioalgax) مورد استفاده در این آزمایش بر پایه عصاره نوعی جلبک دریایی به نام *Ascophyllum nodosum* بود که از شرکت کیمیتک (Kimitec) اسپانیا تهیه گردید. این کود یک منبع فعال و طبیعی از فیتوهورمون‌هایی از قبیل سیتوکینین‌ها، اکسین‌ها و جیبرلین‌ها می‌باشد. میزان و نوع ترکیبات موجود در کود مذکور در جدول ۲ آورده شده است. در اواسط مرداد ماه، پس از رسیدن گیاهان به ارتفاع ۲۰ سانتی‌متری (هشت هفته پس از کاشت)، محلول‌پاشی

جدول ۲- میزان و نوع ترکیبات موجود در کود آلی جلبک دریایی مورد استفاده در این آزمایش

Table 2- Chemical composition of used seaweed fertilizer in this study

ترکیبات Compositions	% w/w
Seaweed Extract عصاره جلبک دریایی	20
Organic Matter ماده آلی	15
Folic Acid فولیک اسید	10
Potassium (K ₂ O) پتاسیم	4.5
Total nitrogen (N) نیتروژن کل	2.5

بوته مطابقت نشان داد.

همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌های مربوط به قطر ساقه نیز نشان داد که تیمار کود آلی جلبک دریایی در سطح احتمال ۱ درصد بر این صفت تاثیر معنی‌دار داشت (جدول ۳). به‌طوری که بیش‌ترین میزان قطر ساقه (۵/۰۰ میلی‌متر) در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر کود آلی جلبک دریایی و کم‌ترین میزان این صفت (۲/۰۰ میلی‌متر) در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۲)، که این یافته‌ها در مورد گیاه فلفل دلمه‌ای نیز گزارش شده است (۲۲). همچنین نتایج حاصل از کاربرد عصاره جلبک دریایی بر روی گیاه فلفل قرمز (*Capsicum annum*) نشان داد که این ترکیب می‌تواند سبب افزایش وزن تر و خشک، طول ریشه و ساقه گردد (۴۴).

تعداد شاخه فرعی

در پژوهش حاضر اثر تیمارها در بررسی صفت تعداد شاخه فرعی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). به‌طوریکه بیش‌ترین تعداد شاخه فرعی (۳۵/۴۴ عدد در بوته) در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و کم‌ترین (۱۶/۳۳ عدد در بوته) در تیمار شاهد حاصل گردید (شکل ۳). بنابر نتایج حاصله و مطالعات پیشین و با توجه به این که عصاره جلبک دریایی دارای ترکیباتی از جمله بتائین‌ها (شبه سائتوکینین) بوده، بدلیل افزایش تقسیم سلولی سبب افزایش رشد و تعداد شاخه‌های فرعی و ریشه‌ها می‌شود (۷).

طول و عرض برگ

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که طول و عرض برگ در اثر محلول‌پاشی سطوح مختلف عصاره جلبک دریایی تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کود جلبک دریایی، افزایش معنی‌داری در این صفات مشاهده شد، به‌طوریکه بیش‌ترین طول و عرض برگ به ترتیب ۴۳/۲۲ و ۸/۰۷ میلی‌متر در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر حاصل شد (جدول ۵).

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

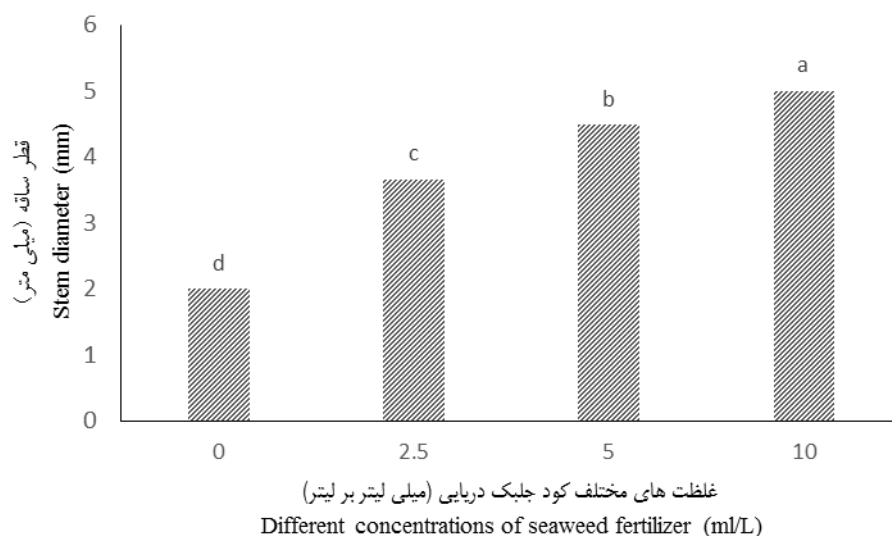
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر کود آلی جلبک دریایی بر وزن تر و خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید ولی اثر تیمارها بر وزن تر اندام هوایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیش‌ترین (۱۸۱/۰۱ گرم در بوته) و کم‌ترین (۱۳۳/۲۴ گرم در بوته) وزن تر اندام هوایی به ترتیب در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و شاهد مشاهده گردید.

پس از اتمام تیمارها، برداشت گیاهان به منظور ارزیابی مورفولوژیک در مرحله گلدهی کامل در اواخر شهریور ماه صورت پذیرفت و سپس تعداد ۳ بوته از هر کرت (تکرار) با در نظر گرفتن اثر حاشیه انتخاب و پس از خارج کردن کامل از خاک (به همراه ریشه) به آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. صفات مورفولوژیک مورد مطالعه عبارت بودند از: ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی، طول و عرض برگ، وزن تر و خشک تک‌بوته، وزن تر و خشک ریشه، شاخص سبزی‌نگی، درصد و عملکرد اسانس. جهت اندازه‌گیری این صفات از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ گرم و کولیس دیجیتالی استفاده گردید. همچنین شاخص سبزی‌نگی (شاخص محتوای کلروفیل برگ) بوسیله دستگاه اسپدومتر^۱ مدل ۵۰۲ در شرایط مزرعه‌ای و بر روی گیاه زنده اندازه‌گیری گردید. سپس نمونه‌ها به محیط سایه منتقل شد و پس از خشک شدن در سایه، برای حصول اطمینان از خشک شدن، به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برای تعیین میزان اسانس ۵۰ گرم از برگ‌های خشک شده هر تیمار (۲ تکرار) پس از خرد شدن، با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری گردید. درصد اسانس نمونه‌ها با وزن نمودن اسانس استحصال شده بصورت وزنی/وزنی اندازه‌گیری شد و عملکرد اسانس از حاصل‌ضرب درصد اسانس در عملکرد اندام هوایی (بر اساس وزن خشک پیکره رویشی) بر حسب گرم در متر مربع محاسبه گردید. به‌منظور تجزیه و تحلیل و تعیین همبستگی بین صفات مهم کمی (ضریب پیرسون) از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۲) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام گردید و رسم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

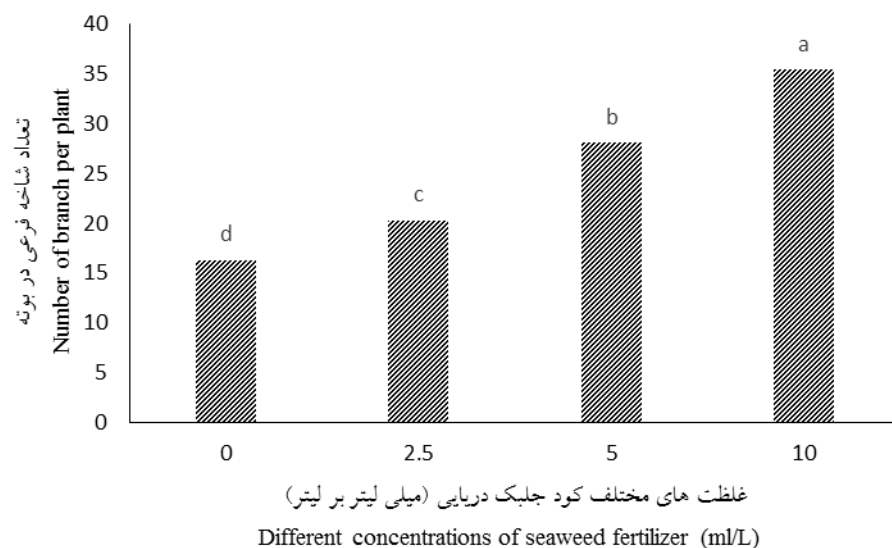
ارتفاع بوته و قطر ساقه

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر تیمارهای مختلف کودی در سطح احتمال ۱ درصد بر ارتفاع بوته معنی‌دار گردید (جدول ۳). به‌طوریکه بیش‌ترین ارتفاع بوته (۵۴/۶۶ سانتی‌متر) مربوط به تیمار ۵ میلی‌لیتر بر لیتر و کم‌ترین آن (۳۷/۰۰ سانتی‌متر) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۵). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که افزایش غلظت مصرف جلبک دریایی سبب افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه می‌گردد، که این نتیجه با نتایج پژوهش سایر محققین در گیاه لوبیا (۳۹)، گوجه فرنگی (۴۵)، همیشه بهار (۲۰) و گندم (۲۴) مبنی بر افزایش ارتفاع



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف کود جلبک دریایی بر قطر ساقه گیاه مرزه

Figure 2- Effect of different concentrations of seaweed fertilizer on stem diameter of savory (LSD, $p \leq 0.01$)



شکل ۳- تاثیر غلظت‌های مختلف کود جلبک دریایی بر تعداد شاخه‌های فرعی گیاه مرزه

Figure 3- Effect of different concentrations of seaweed fertilizer on branch number of savory (LSD, $p \leq 0.01$)

که اثر کود آلی جلبک دریایی بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، به‌طوری‌که بیشترین (۶/۴۲ گرم در بوته) میزان وزن خشک ریشه و کم‌ترین (۲/۴۷ گرم در بوته) میزان آن به ترتیب در تیمارهای ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و شاهد بدست آمد (جدول ۵). تاثیر مثبت عصاره جلبک دریایی بر صفات فوق‌الذکر ممکن است به علت وجود عناصر ماکرو و میکرو و همچنین تنظیم‌کننده‌های رشد در

هم‌چنین بیشترین (۱۵/۱۷ گرم در بوته) میزان وزن تر ریشه در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و کم‌ترین (۸/۶۲ گرم در بوته) آن در تیمار شاهد بود. اثر کود آلی جلبک دریایی بر میزان وزن خشک اندام هوایی مثبت ارزیابی گردید به‌طوری‌که بیشترین (۳۷/۶۹ گرم در بوته) میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر و کم‌ترین (۲۴/۴۷ گرم در بوته) آن در تیمار شاهد حاصل شد. این در حالی است

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر کود جلبک دریایی بر شاخصه‌های رشدی مرزه

منابع تغییرات (SOV)	درجه آزادی df	تعداد شاخه-های فرعی Number of branches	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	قطر ساقه Stem diameter	ارتفاع بوته Plant height	وزن خشک			شاخص اسپد Spad index
							وزن تر اندام Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	
بلوک Block	2	8.92	2.87	2.20	0.26	28.50	3188.57	2.97	1.09	127.70
کود Fertilizer	3	646.92 **	681.36 **	35.24 **	15.53 **	514.91 **	*8040.98	83.84 **	27.81 **	818.62 **
خطای آزمایش Error	6	3.48	2.98	0.81	0.25	6.25	2792.25	1.30	0.56	54.30
ضرب تغییرات CV (%)	-	7.45	5.09	14.51	13.34	5.32	32.29	8.93	16.42	18.08

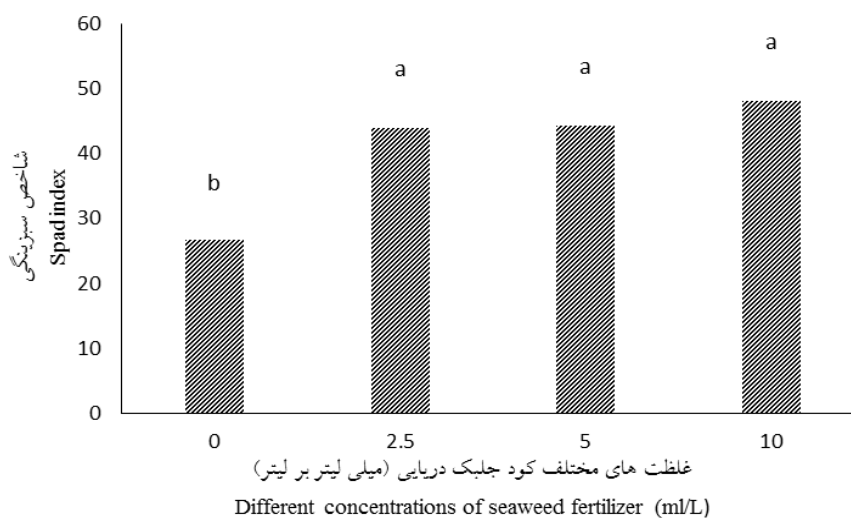
ns: non-significant, *, **, * to 1% of probability level, respectively.

ترکیب این کود آلی باشد (۴۴).

محققین مختلف اثبات کرده‌اند که کود جلبک دریایی می‌تواند سبب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک شده و همین مسئله سبب افزایش رشد رویشی و عملکرد کمی و کیفی گیاهان شود. به‌طور مثال کاربرد عصاره جلبک دریایی به صورت محلول‌پاشی توانسته است غلظت عناصر غذایی از قبیل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، آهن و روی را در غده سیب‌زمینی (۱۴)، روی در برگ‌های انگور گونه شرابی (۳۶) و پتاسیم در برگ‌های بادام (۳۵) در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دهد. در آزمایشی بر روی گیاه بامیه عصاره طبیعی جلبک دریایی توانست قدرت رویشی جوانه‌ها را افزایش دهد و همین عامل توانست سبب افزایش وزن تر گیاه شود، این احتمال وجود دارد که اثرات مفید و متعدد کاربرد عصاره جلبک دریایی به دلیل وجود اثرات سینرژیک فیتوهورمون‌هایی مانند سیتوکینین‌ها، اکسین‌ها و پلی‌آمین‌ها باشد (۳۲). در مطالعه‌ای وان استادن و همکاران (۴۳) بیان نمودند که محلول پاشی کود آلی جلبک دریایی در گیاه چغندر قند سبب افزایش رشد برگ‌ها و ریشه‌ها در مقابل گیاهان شاهد شد. در مطالعه‌ای دیگر در گیاهانی که به وسیله عصاره جلبک دریایی تیمار شده بودند مشاهده گردید که برگ‌های آن‌ها دارای مقادیر بسیار کمی سابتوکینین بوده ولی در ریشه‌ها مقدار این هورمون بسیار بالا بود (۱۵). به‌طور مشابه پس از کاربرد کود آلی جلبک دریایی وزن خشک ریشه در گیاه لوبیای فرانسوی در حدود ۴۳ درصد افزایش یافت و متقابلاً وزن خشک پیکره گیاه نیز در حدود ۲۴ درصد افزایش یافت (۱۶). همچنین در آزمایشی تولید ریشه و شاخه‌زایی در گندم تحت تیمار با عصاره جلبک دریایی افزایش یافت (۲۹). در آزمایشی دیگر رشد ریشه در گیاه خیار گلخانه‌ای تحت تیمار عصاره جلبک دریایی تا ۵۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت که نتایج آن با آزمایش حاضر به‌طور کامل مطابقت دارد (۲۸).

شاخص سبزی‌نگی (شاخص اسپد)

به‌طور کلی محلول‌پاشی کود جلبک دریایی تأثیر معنی‌داری بر شاخص سبزی‌نگی در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۳). به‌طوریکه نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بیشترین مقدار شاخص اسپد در تیمار ۱۰ میلی لیتر بر لیتر (۴۸/۱۳) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد (۲۶/۷۳) بدست آمد (شکل ۴). از دلایل افزایش محتوای کلروفیل گیاهان تحت تیمار کود جلبک دریایی، وجود هورمون‌های رشد (اکسین، جیبرلین و سابتوکینین)، بتائین، اسیدهای آمینه و همچنین مقادیری از عناصر غذایی می‌تواند باشد که در افزایش میزان کلروفیل گیاه تأثیر بسیاری دارند (۱۰). همچنین گزارش شده است که وجود بتائین در عصاره جلبک نیز از زوال کلروفیل جلوگیری می‌کند (۳۷).



شکل ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف کود جلبک دریایی بر شاخص اسپد (میزان سبزی‌نگی) گیاه مرزه
Figure 4- Effect of different concentrations of seaweed fertilizer on spad index of savory (LSD, $p \leq 0.01$)

جدول ۴- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر کود جلبک دریایی بر درصد و عملکرد اسانس مرزه
Table 4- Analysis of variance (mean squares) of the effect of seaweed fertilizer on essential oil percentage and yield of summer savory

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	درصد اسانس Essential oil percent	عملکرد اسانس Essential oil yield
تکرار Replication	1	0.009	0.07
تیمار (کود) Treatment (fertilizer)	3	0.590*	5.82*
خطای آزمایش Error	3	0.032	0.22
ضریب تغییرات CV (%)	-	10.16	11.34

ns، * و **، به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
ns: non-significant, *, **: Significant at 5% and 1% of probability level, respectively

مختلف تیمار بر درصد و عملکرد اسانس در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴) و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد و عملکرد اسانس (به ترتیب ۲/۵۱ درصد و ۶/۲۸ گرم در متر مربع) در تیمار ۵ میلی‌لیتر و کم‌ترین میزان درصد و عملکرد اسانس (به ترتیب ۱/۲۱ درصد و ۲/۱۹ گرم در متر مربع) در تیمار شاهد بدست آمد (جدول ۵). نتایج حاصله نشان دهنده این موضوع‌اند که با افزایش غلظت کود آلی جلبک دریایی تا حد معینی درصد اسانس افزایش می‌یابد و با افزایش بیش از حد آن بدلیل افزایش میزان رشد ریشی و کاهش مقدار اسانس در واحد وزن (گیاه)، درصد اسانس به طور معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. همچنین کود جلبک دریایی می‌تواند سبب تاثیر مثبت بر بیوسنتز پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها، پلی‌فنول‌ها و ... در گیاهان شود (۱۷ و ۹) که این ترکیبات دارای تاثیر

همچنین پس از اتمام آزمایش و شروع فصل سرما (آذر ماه) مشاهده گردید که کرت گیاهان تحت تیمار ۱۰ میلی لیتر بر لیتر عصاره کود جلبک دریایی نسبت به تیمارهای دیگر کمتر آسیب دیده و از بین نرفتند که دلیل این واکنش می‌تواند به دلیل وجود مقادیر مختلف عناصر غذایی مختلف و همچنین وجود تنظیم‌کننده‌های رشد اتفاق بیافتد، لذا می‌توان اثر مثبت کود آلی جلبک دریایی را بر صفاتی از این قبیل را در مطالعات آینده در راستای بررسی اثر کود جلبک دریایی بر روی خواص آنزیمی و مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی مرزه مورد بررسی قرار گیرد.

درصد و عملکرد اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که، اثر سطوح

جدول ۵- اثر تیمارهای کود جلبک دریایی بر صفات اندازه‌گیری شده در مرزه
Table 5-The effect of seaweed fertilizer on the measured traits of summer savory

غلظت کود جلبک دریایی Seaweed fertilizer concentration (ml l ⁻¹)	طول برگ Leaf length (mm)	عرض برگ Leaf width (mm)	ارتفاع بوته Plant height (cm)	وزن تر Shoot fresh weight (g)	وزن خشک Shoot dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	مقدار اسانس Essential oil content (%)	عملکرد اسانس Essential oil yield (g/m ²)
0 (Control)	23.00 d	3.42 c	37.00 d	132.24 b	24.47 c	8.62 c	2.47 d	1.21 b	2.51 c
2.5	31.55 c	6.47 b	45.66 c	145.19 ab	31.65 b	12.40 b	3.85 c	1.73 b	3.63 bc
5	37.88 b	6.88 b	54.66 a	196.08 a	37.64 a	14.97 a	5.51 b	2.51 a	6.28 a
10	43.22 a	8.07 a	50.33 b	181.01 ab	37.69 a	15.17 a	6.42 a	1.60 b	4.48 b

* حروف مشابه در ستون‌ها بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بر اساس آزمون دانکن در سطح ۱ درصد است

Means in each column followed by similar letter (s) are not significantly different at 1% probability level based on Duncan's Multiple Range Test

مثبت بر متابولیسم سلولی بوده و سبب افزایش رشد گیاه و تعداد غدد اسانس در برگ‌ها می‌شوند. از طرف دیگر با افزایش رشد گیاه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه افزایش یافته و به طور مستقیم بر میزان و عملکرد اسانس تاثیر می‌گذارد (۴۲). نتایج این آزمایش با نتایج سایر محققین (۳ و ۲۳) روی گیاه مرزنجوش و ریحان در رابطه با تاثیر مثبت کود جلبک دریایی بر درصد اسانس مطابقت داشت. به‌علاوه نتایج آزمایش حاضر با نتایج (۱۳) مبنی بر تاثیر مثبت عصاره کود جلبک دریایی در افزایش میزان اسانس در گیاه نعنا و ریحان نیز مطابقت دارد (۱۳).

همبستگی بین صفات

همانطور که در جدول شماره (۶) مشاهده می‌شود، بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات عملکرد اسانس و ارتفاع بوته ($r = 0.961$ ، $r^2 = 0.923$)، درصد اسانس و عملکرد اسانس ($r = 0.945$ ، $r^2 = 0.893$)، طول برگ با تعداد شاخه فرعی ($r = 0.918$ ، $r^2 = 0.843$)، درصد اسانس با ارتفاع بوته ($r = 0.913$ ، $r^2 = 0.834$)، وزن خشک ریشه با طول برگ ($r = 0.881$ ، $r^2 = 0.776$) وجود داشت، که این موضوع می‌تواند به دلیل تاثیر مثبت کود آلی جلبک دریایی بر افزایش رشد ریشه و متقابلاً جذب بیشتر عناصر غذایی از خاک باشد. هم‌چنین کم‌ترین همبستگی ($r = 0.233$ ، $r^2 = 0.054$) بین صفات شاخص اسپد و وزن تر ساقه و وزن تر ساقه و عرض برگ ($r = 0.278$ ، $r^2 = 0.077$) وجود داشت (جدول ۶).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که استفاده از کود آلی جلبک دریایی سبب تاثیر مثبت و معنی‌داری بر روی شاخصه‌های رشدی گیاه دارویی مرزه شده و می‌تواند سبب افزایش و بهبود صفاتی نظیر درصد و عملکرد اسانس نیز گردد. به‌طور کلی و براساس نتایج حاصل شده از آزمایش به ترتیب تیمارهای ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر بر لیتر دارای بهترین کارایی بوده و قابل توصیه می‌باشند. هم‌چنین استفاده از کود جلبک دریایی توانایی به حداقل رساندن استفاده از کودهای شیمیایی را داشته و می‌تواند هزینه‌های مربوط به تولید گیاهانی از قبیل مرزه را کاهش داده و از نظر زیست محیطی نیز بی‌خطر باشد.

جدول ۶- ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی در مرزه

Table 6- Pearson correlation coefficients between studied traits of summer savory

Traits صفات	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1- تعداد شاخه فرعی Number of branches	1											
2- طول برگ Leaf length (mm)	0.92**	1										
3- عرض برگ Leaf width (mm)	0.70**	0.80**	1									
4- قطر ساقه Stem diameter (mm)	0.80**	0.90**	0.80**	1								
5- ارتفاع بوته Plant high (cm)	0.71**	0.76**	0.66**	0.74**	1							
6- وزن تر ریشه RFW(g m ⁻²)	0.77**	0.88**	0.78**	0.83**	0.77**	1						
7- وزن خشک ریشه RDW (g m ⁻²)	0.84**	0.85**	0.83**	0.82**	0.73**	0.86**	1					
8- وزن تر ساقه SFW (g m ⁻²)	0.34 *	0.38 *	0.28	0.57**	0.34 *	0.37 *	0.36 *	1				
9- وزن خشک ساقه SDW (g m ⁻²)	0.71**	0.70**	0.59**	0.72**	0.76**	0.65**	0.72**	0.44**	1			
10- شاخص اسپد Spad index	0.56**	0.63**	0.64**	0.56**	0.66**	0.63**	0.51**	0.23	0.38 *	1		
11- درصد اسانس Essential oil percent	0.47	0.46	0.62	0.50	0.92**	0.56**	0.42	0.79 *	0.38	0.52	1	
12- عملکرد اسانس Essential oil yield (g/m ²)	0.73 *	0.70	0.71 *	0.73 *	0.96**	0.75**	0.67 *	0.91**	0.60	0.52	0.94**	1

RFW: Root fresh weight, RDW: Root dry weight, SFW: Shoot fresh weight and SDW: Shoot dry weight, respectively.

* و **, به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

*, **: Significant at 5% and 1% of probability level, respectively

منابع

- Adesemoye A.O., Torbert H.A., and Kloepper J.W. 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial ecology*, 58(4), 921-929.
- Alam, M. Z., Braun, G., Norrie, J., & Hodges, D. M. 2013. Effect of *Ascophyllum* extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(1), 23-36.
- Andrea, C., Lingua, G., Bardi, L., Masoero, G., & Berta, G. 2007. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and essential oil composition in *Ocimum basilicum* var. Genovese. *Caryologia*, 60(1-2), 106-110.
- Arun, K. S. 2002. A handbook of Organic Farming. Pub. Agrobios, India.
- Azaz, D., Pemircif, M.N., and Baser K.H. 2002. Antimicrobial activity of *Satureja* oils. *Zeitschrift für Naturforschung*, 57: 817-821.
- Bezić, N., Šamanić, I., Dunkić, V., Besendorfer, V., & Puizina, J. 2009. Essential oil composition and internal transcribed spacer (ITS) sequence variability of four South-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae). *Molecules*, 14(3), 925-938.
- Blunden, G., & Wildgoose, P. B. (1977). The effects of aqueous seaweed extract and kinetin on potato yields. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(2), 121-125.
- Chatterji, A., Dhargalkar, V. K., Sreekumar, P. K., Parameswaran, P. S., Rodrigues, R., & Kotnala, S. 2004. Anti-influenza activity in the Indian seaweeds-A preliminary investigation. In the proceeding of the 2004 National Seminar on New Frontiers in Marine Bioscience Research, pp: 11-16.
- Chojnacka, K., Saeid, A., Witkowska, Z., & Tuhy, L. 2012. Biologically active compounds in seaweed extracts—the prospects for the application. In *The open conference proceedings journal*, 3, (1), 20-28.
- Chouliaras, V., Tasioula, M., Chatzissavvidis, C., Therios, I., & Tsalolaidou, E. 2009. The effects of a seaweed

- extract in addition to nitrogen and boron fertilization on productivity, fruit maturation, leaf nutritional status and oil quality of the olive (*Olea europaea* L.) cultivar Koroneiki. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(6), 984-988.
11. Dobromilska, R., Mikiciuk, M., & Gubarewicz, K. 2008. Evaluation of cherry tomato yielding and fruit mineral composition after using of Bio-algeen S-90 preparation. Journal of Elementology, 13(4), 491-499.
12. Durairatnam, M. 1961. Contribution to the study of the marine algae of Ceylon. Bulletin of the Fisheries Research Station, Ceylon, 10, 1-181.
13. Elansary, H. O., Yessoufou, K., Shokralla, S., Mahmoud, E. A., & Skalicka-Woźniak, K. 2016. Enhancing mint and basil oil composition and antibacterial activity using seaweed extracts. Industrial Crops and Products, 92, 50-56.
14. Erulan, V., Soundarapandian, P., Thirumaran, G., & Ananthan, G. 2009. Studies on the effect of Sargassum polycystum extract on the growth and biochemical composition of *Cajanus cajan* (L.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 6(4), 392-399.
15. Featonby-Smith, B. C., & Van Staden, J. 1983. The effect of seaweed concentrate and fertilizer on the growth of *Beta vulgaris*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 112(2), 155-162.
16. Featonby-Smith, B. C., & Van Staden, J. 1984. The effect of seaweed concentrate and fertilizer on growth and the endogenous cytokinin content of *Phaseolus vulgaris*. South African Journal of Botany, 3(6), 375-379.
17. Gollan, J. R., & Wright, J. T. 2006. Limited grazing pressure by native herbivores on the invasive seaweed *Caulerpa taxifolia* in a temperate Australian estuary. Marine and Freshwater Research, 57(7), 685-694.
18. Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Ağ ar, G., Özkan, H., Kartal, N. & Şahin, F. 2003. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. Journal of Agricultural and food chemistry, 51(14), 3958-3965.
19. Hadian, J., Tabatabaei, S. M. F., Naghavi, M. R., Jamzad, Z., & Ramak-Masoumi, T. 2008. Genetic diversity of Iranian accessions of *Satureja hortensis* L. based on horticultural traits and RAPD markers. Scientia Horticulturae, 115(2), 196-202.
20. Heydari, M., Daneshian Mogaddam, A.M., Nourafcan, H. 2017. Effect of Vermicompost and Liquid Seaweed Fertilizer on Morpho-physiological Properties of Marigold (*Calendula officinalis* L.). Journal of Crop Ecophysiology, 10 (4), 891-906. (in Persian with English abstract)
21. Heywood, V.H. 2002. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. PP. 13-22. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D. on 32: 31-52.
22. Indian Botanical Society, 71 (1):19-21.
22. Jayasinghe, P. S., Pahalawattaarachchi, V., & Ranaweera, K. K. D. S. 2016. Effect of Seaweed Liquid Fertilizer on Plant Growth of *Capsicum annum*. Discovery, 52, 723-734.
23. Karagiannidis, N., Thomidis, T., Lazari, D., Panou-Filothou, E., & Karagiannidou, C. 2011. Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. Scientia horticulturae, 129(2), 329-334.
24. Kumar, G., & Sahoo, D. 2011. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. Journal of Applied Phycology, 23(2), 251-255.
25. Malakouti, M. J. 2018. Optimal fertilizer use recommendations for yield increase and production of healthy crops: determinig quality, type and time of fertilizer application for achaving an obtainable self-sufficiently, sustainable food security and optimizing farmers income (4thedition, completely revised). Moballeghan publishing. Farmers house Tehran- Iran. (in Persian with English abstract)
26. Melero, S., Vanderlinden, K., Ruiz, J. C., & Madejon, E. 2008. Long-term effect on soil biochemical status of a Vertisol under conservation tillage system in semi-arid Mediterranean conditions. European Journal of Soil Biology, 44(4), 437-442.
27. Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Stojanović-Radić, Z., & Zlatković, B. 2010. Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. Archives of Biological Sciences, 62(1), 159-166.
28. Nelson, W. R., & Van Staden, J. 1984. The effect of seaweed concentrate on growth of nutrient-stressed, greenhouse cucumbers. HortScience, 19(1), 81-82.
29. Nelson, W.R. & van Staden, J. 1986. Effect of seaweed concentrates on the growth of wheat. South African Journal of Science, 82, 199-200.
30. Omidbaigi, R. 1997. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants. Vol two. Tarrahan e Nashr Publication. Tehran, Iran. (In Persian).
31. Özkalp, B., & Özcan, M. M. 2009. Antibacterial activity of several concentrations of sater (*Satureja hortensis* L.) essential oil on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. World Applied Sciences Journal, 6(4), 509-14.
32. Papenfus, H. B., Kulkarni, M. G., Stirk, W. A., Finnie, J. F., & Van Staden, J. 2013. Effect of a commercial

- seaweed extract (Kelpak®) and polyamines on nutrient-deprived (N, P and K) okra seedlings. *Scientia Horticulturae*, 151, 142-146.
33. Paul, J. and Shridevi, S.D.K. 2014. Effect of seaweed liquid fertilizer of *Gracilaria dura* (Red seaweed) on *Pennisetum glaucum* in Thoothukudi, Tamil nadu, India. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 4 (4): 2231-6876.
34. Pramanick, B., Brahmachari, K., & Ghosh, A. 2013. Effect of seaweed saps on growth and yield improvement of green gram. *African Journal of Agricultural Research*, 8(13), 1180-1186.
35. Saa, S., Rio, O. D., Castro, S., & Brown, P. H. 2015. Foliar application of microbial and plant based biostimulants increases growth and potassium uptake in almond (*Prunus dulcis*). *Frontiers in Plant Science*, 6, 1-9.
36. Sabir, A., Yazar, K., Sabir, F., Kara, Z., Yazici, M. A., & Goksu, N. 2014. Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. *Scientia Horticulturae*, 175, 1-8.
37. Shahbazi, F., Nejad, M. S., Salimi, A., & Gilani, A. 2015. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 8(3), 283.
38. Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agro-bios, India.
39. Sivasankari, S., Venkatesalu, V., Anantharaj, M., & Chandrasekaran, M. 2006. Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresource Technology*, 97(14), 1745-1751.
40. Street, R. A. 2012. Heavy metals in medicinal plant products—An African perspective. *South African Journal of Botany*, 82, 67-74.
41. Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elmat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4), 1372-1378.
42. Tawfeeq, A., Culham, A., Davis, F., & Reeves, M. 2016. Does fertilizer type and method of application cause significant differences in essential oil yield and composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Industrial Crops and Products*, 88, 17-22.
43. Van Staden, J. 1976. Seasonal changes in the cytokinin content of *Ginkgo biloba* leaves. *Physiologia Plantarum*, 38(1), 1-5.
44. Vijayakumar, S., Durgadevi, S., Arulmozhi, P., Rajalakshmi, S., Gopalakrishnan, T., & Parameswari, N. 2018. Effect of seaweed liquid fertilizer on yield and quality of *Capsicum annum* L. *Acta Ecologica Sinica*, In press
45. Zodap, S.T., A. Gupta, S.C. Bhandari, U.S. Rawat, D.R. Chaudhary, K. Eswarana, and J. Chikara. 2011. Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill). *Journal of Scientific and Industrial Research*, 70, 215-219.



Effect of Different levels of Seaweed Fertilizer on Growth Parameters, Yield and Essential Oil Content of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.)

A. Rezaei¹- M. T. Ebadi^{2*}- H. Pirani³

Received: 02-02-2019

Accepted: 10-11-2019

Introduction: Organic production is one of the important aspects in the medicinal plants industry and the use of organic fertilizers is very important in this topic. Seaweeds are important marine living resources with tremendous commercial applications and many commercial products from seaweed extract are used in agriculture and horticulture. Seaweed extracts can be used in liquid form as a foliar spray, soil drench or in powder and granular forms as soil conditioners and manure. Using seaweed extracts as fertilizers can improve plant productivity, because they contain growth-promoting hormones. Several studies have also shown that the seaweed extracts can suppress plant diseases and insect pests. Nowadays, seaweed extract is used as an organic fertilizer in order to increase the quantitative yield of medicinal plants and also resistance to environmental stresses. Summer savory is one of the medicinal and spice plants that has a high area under cultivation in our country for food and medicine. Various studies on its essential oil had been shown that it contains high amounts of phenolic compounds like Carvacrol, γ -Terpinene, Thymol, p-Cymene, β -Caryophyllene, Linalool, and other terpenoids.

Materials and Methods: In order to study the effect of different levels of seaweed fertilizer on the growth characteristics, plant material yield, essential oil percentage of summer savory, an experiment was conducted as a randomized complete block design with 3 replications at the Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University (TMU) during 2017. The treatments included: 0 (control), 2.5, 5 and 10 ml/liter seaweed fertilizer that they were used as a foliar application for three times in the growing season. According to the meteorological data, the area had an average rainfall of 246 mm and a semi-arid climate. In order to determine the physical and chemical properties of the soil, soil sampling and testing were done. To prepare the field, the soil tillage operation was carried out using a 40 cm depth plow. Then, plots with a 2 × 2 meters at a distance of half a meter from each other were prepared. The seeds used in this experiment were prepared from Varamin landrace, which is mainly cultivated by farmers in Tehran and Alborz provinces. Sowing operation was carried out manually. In each plot, 7 rows (30 cm spacing between rows) were cultivated and all of the plots were irrigated in the same conditions. The organic fertilizer (Bioalgax) used in this experiment was based on an extract of seaweed (*Ascophyllum nodosum*), which was obtained from the Kimatec company, Spain. This fertilizer is a natural source of phytohormones such as cytokinins, auxins, and gibberellins and also, it has some minerals. After reaching the height of 20 cm (eight weeks after planting), spraying of the fertilizer solutions was applied three times during the growing season at intervals of 10 days. The foliar application was carried out at sunset time by using a manual sprayer. The harvest was carried out at full flowering stage and 3 plants of each plot were harvested. The studied traits were: plant height, stem diameter, the number of branches, leaf length, and width, shoot fresh and dry weight, root fresh and dry weight, SPAD index, essential oil yield and content.

Results and Discussion: The results showed that different concentrations of seaweed fertilizer had a significant effect on the number of branches, shoot dry weight, root fresh and dry weight, leaf width and plant height at 1% probability level. They also had a significant effect on the shoot fresh weight, essential oil percentage, and yield at 5% probability level. On the basis of the results, the highest number of branches (35.44), leaf length and width (43.22 and 8.07 mm), stem diameter (5.00 mm), root fresh and dry weight (15.17 and 6.42 g), shoot fresh and dry weight (181.01 and 37.69 g) and SPAD index (48.13) were obtained from 10 ml/liter seaweed fertilizer and the lowest amounts were observed in control treatment. The maximum plant height (54.66 cm) and the highest percentages and the yield of essential oil (2.51% and 6.28 g/m²) were also obtained from 5 ml/liter seaweed fertilizer. According to the results, the response of summer savory to the use of seaweed fertilizer was positive and it could be placed in the fertilization program of farmers.

Keywords: Medicinal plants, Organic fertilizer, Seaweeds, Summer savory, Sustainable agriculture.

1, 2 and 3- Ph.D student, Assistant Professor and MSc student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(*- Corresponding Author Email: mt.ebadi@modares.ac.ir)



مطالعه اثر رویشگاه بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه پونه (*Mentha longifolia* L.)

محسن عیسی پور^{۱*} - خدایار همتی^۲ - نسترن همتی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۰۶

چکیده

پونه (*Mentha longifolia* L.) گیاه دارویی و معطر ارزشمند متعلق به خانواده نعنائیان است. در این تحقیق، اثر شش رویشگاه با ارتفاع متفاوت (ارتفاعات شهرستان آمل) بر روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پونه در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد صفات مورد ارزیابی در بین رویشگاه‌های پونه تفاوت معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین تعداد برگ در بوته (۲۵ عدد) و تعداد شاخه گیاه در بوته (۲۷ عدد) پونه به ترتیب در منطقه گت لش و سیوزمین بدست آمد. همچنین بیشترین تعداد گل (۱۵ عدد) و بیشترین تعداد گره (۲۲ عدد) به ترتیب در بندریکا و گت لش مشاهده شد. منطقه گت لش و سیوزمین به ترتیب بیشترین و کمترین میزان محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی را دارا بودند. تفاوت معنی‌داری بین محتوای فنل کل و فلاونوئید کل در رویشگاه‌های مختلف وجود نداشت هرچند بیشترین میزان در مناطق پرده و گت لش مشاهده شد. نتایج نشان داد بیشترین و کمترین بازده اسانس به ترتیب از رویشگاه‌های گت لش و واش ورین بدست آمد. میزان پولگون در برگ گیاه پونه با افزایش ارتفاع افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان پولگون (۶۰۶۹ پی‌پی‌ام) در منطقه پرده بدست آمد. بنابراین، با توجه به نتایج کلی بدست آمده، بهترین رویشگاه‌ها برای حصول بیشترین بازدهی اسانس و پولگون به ترتیب رویشگاه‌های گت لش و پرده می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: پونه، رویشگاه، ارتفاع، اسانس، پولگون

مقدمه

M. suaveolens و *M. spicata*، *M. longifolia* و *M. arvensis* گزارش شده است (۲۴). گیاه پونه یکی از مهمترین گونه‌ها نعنای است که خواص ضد اسپاسم، ضد آسم، ضد نفخ و خصوصیات آنتی‌موتازنیک آن گزارش شده است (۲). گزارش شده است که پولگون، کارون و منتول از ترکیبات اصلی اسانس گونه *Mentha longifolia* L. می‌باشند (۱۰). در تحقیق دیگری نشان داده شد اجزای اصلی اسانس گیاه پونه را ترکیبات ۱،۸-سینئول، پولگون، ایزومتون و آلفا-پینن تشکیل می‌دهند (۸).

خواص ضد میکروبی اسانس را می‌توان به دلیل وجود گروه‌های پولگون، منتون و نئومتون دانست زیرا می‌توانند با تغییر نفوذپذیری غشا سلولی و تخریب دیواره باکتریایی سبب از بین بردن ساختار لایه‌های مختلف پلی ساکارید، اسیدهای چرب و فسفولیپیدهای غشای باکتری شوند (۳۴). بیان شده است روغن‌های ضروری پونه از نوع سیکلوپروپان‌ها و معطر بوده و پولگون ترکیب اصلی این روغن‌ها، دارای عطر معین در محدوده نعنایی شدید تا تند و سرکه‌ای است (۱۳). پولگون در طبیعت گیاه را از آسیب حشرات و گیاه‌خواران حفظ می‌کند. در صنعت از آن در ساخت حشره‌کش‌ها،

گیاهان دارویی و معطر خانواده نعنای به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی مهم گیاهان بخاطر انعطاف اکولوژیکی بسیار زیاد نسبت به اقلیم‌های متنوع شناخته می‌شوند (۱). جنس نعنا با قدمت استفاده بیش از ۲۰۰۰ سال، یکی از مهمترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی می‌باشد. بخش هوایی و اسانس گونه‌های نعنای به عنوان ماده دارویی در صنایع غذایی، بهداشتی-آرایشی، داروسازی، شیرینی‌سازی، نوشابه‌ای و صنایع ادویه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۷). گیاهان جنس نعنای منبع مهمی از ترکیبات آنتی اکسیدان هستند و جزو مهمترین سبزی‌های خوراکی در سراسر جهان شناخته می‌شوند که در ایران شش گونه *M. aquatica*، *M. mozaffarianii*، *M. longifolia*، *M. sylvestris*، *M. arvensis* و *M. suaveolens* وجود دارد.

۱ - کارشناس ارشد گیاهان دارویی، موسسه آموزش عالی سنا، ساری
(*) نویسنده مسئول: Email: mohsen_eisapoor@yahoo.com

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشجوی دکتری گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد که این تفاوت می‌تواند در ترکیب شیمیایی اسانس و تاثیر عوامل ژنتیکی و رویشگاهی بر پونه نیز دیده شود (۶).

بنابراین، با توجه به مقدار بالای مونوترپن پولگون در گونه پونه و اهمیت این ترکیب در صنایع مختلف دارویی و بهداشتی، همچنین پراکنش جغرافیایی نسبتاً گسترده این گونه در سراسر کشور، در این آزمایش تاثیر شرایط اقلیمی و ارتفاع رویشگاه‌های مختلف در استان مازندران (شهرستان آمل) بر صفات مورفولوژی، بیوشیمیایی و بازدهی اسانس گیاه پونه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

به منظور بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و کیفی شش رویشگاه گیاه پونه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۷ در سه تکرار انجام شد. رویشگاه‌های مختلف پونه متعلق به رویشگاه‌های بلقلم، بندریکا، سیوزمین، گت لاش، واش ورین و پردمه در محدوده ارتفاعی ۱۵۰۰ تا ۲۶۰۰ متر از سطح دریا واقع در شهر آمل از استان مازندران بودند (جدول ۱). در هر رویشگاه نمونه‌های گیاهی در زمان گلدهی بر اساس طرح برداشت شدند. پس از بررسی برخی صفات مورفولوژی، اقدام به خشک کردن برگ‌های گیاه در شرایط سایه و تهویه مناسب شد.

دئودورانت‌ها، صابون‌های معطر و همچنین به عنوان طعم دهنده در خمیر دندان‌ها استفاده می‌شود. از دیگر خواص دارویی پولگون، می‌توان درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه را نام برد (۲۵).

عوامل مختلفی از جمله نوع گونه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و اقلیم منطقه بر رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌های مختلف تاثیرگذار می‌باشند. ویژگی‌های مختلف خاک بر چگونگی رشد و نمو گیاه و نیز بر میزان مواد موثره گیاهان تاثیر می‌گذارند (۱۹). گزارش‌ها نشان دادند همبستگی بالایی بین ترکیبات مواد موثره و منشأ جغرافیایی گیاهان وجود دارد (۱۱). در تحقیقی نشان داده شد بین ژنوتیپ‌های مختلف از سه گونه نعناع، در درصد و عملکرد اسانس آن‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد و محققین بیان داشتند که ژنوتیپ‌های اصفهان و همدان به ترتیب بیشترین و کمترین عملکرد اسانس را داشتند (۲۸). از آنجا که اکوسیستم‌ها نقش عمده‌ای در بیوستز متابولیت‌های ثانویه دارند، همواره باید به مطالعات تاثیر تغییرات اکوسیستم بر تولیدات متابولیتی گیاهان به خصوص متابولیت‌های ثانویه پرداخت (۲۶). از آنجا که درصد اسانس گونه‌ها در شرایط متفاوت از جمله نوع رویشگاه، دمای محیط، میزان رطوبت، نور، ارتفاع از سطح دریا و میزان بارندگی متغیر است، بررسی ترکیب‌های موجود در این گونه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به ارزش دارویی گونه‌های گیاهی جنس نعناع و تفاوت‌ها و شباهت‌هایی که از نظر فیتوشیمیایی در گونه‌های مختلف این جنس

جدول ۱- مشخصات رویشگاه‌های مورد مطالعه گیاه پونه

Table 1- Characteristic of the studied habitats of *Mentha longifolia* L.

رویشگاه (Habitats)	ارتفاع از سطح دریا (Altitude)	شن Sand (%)	رس Clay (%)	لای Silt (%)	PH	EC (dS m ⁻¹)	C (%)	N (%)	P (ppm)
بلقلم (Belghalam)	1500	74	6	20	8.01	1.55	4.29	0.37	32
بندریکا (Banderika)	1700	66	11	23	8.2	1.16	0.8	0.11	21
سیوزمین (Sivzamin)	1850	54	16	30	7.72	0.92	1.58	0.22	13
گت لاش (Gate Lash)	2000	58	20	32	7.5	0.66	1.48	0.2	9
واش ورین (Vash Varin)	2300	62	15	25	7.82	0.93	2.11	0.23	7
پردمه (Pardameh)	2600	52	16	32	7.94	1.28	2.98	0.29	28

اساس این روش ۵/۰ گرم از نمونه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ میلی لیتر دی‌متیل سولفوکسید اسید

کلروفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش بارنز (۹) استفاده گردید. بر

اضافه و نمونه‌ها بعد از هم زدن با همزن لوله‌ای به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل WPA dgeCambri ساخت کشور انگلستان) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد.

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید تام به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد (۲۰). به این منظور ۰/۵ سی سی از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی تنها از متانول خالص استفاده شد. سپس مخلوط نیم ساعت در تاریکی قرار داده و سپس بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. اعداد به دست آمده برای فلاونوئید کل با رجوع به منحنی استاندارد واقعی می‌شوند بدین منظور غلظت‌های مختلفی از استاندارد کوئرستین ساخته شده و بعد از خوانده شدن عدد جذب منحنی استاندارد رسم شد از معادله خط به دست آمده در منحنی استاندارد جهت تعیین غلظت فلاونوئید کل استفاده شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

در این آزمایش از روش درصد مهار رادیکال‌های دی‌پی‌پی‌ای^۱، استفاده شد (۳). ابتدا دو میلی‌لیتر از DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار (۴ میلی‌گرم رادیکال به ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) به لوله آزمایش اضافه شده و سپس دو میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با آن مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از پایان واکنش بلافاصله جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها حاوی دو میلی‌لیتر DPPH و دو میلی‌لیتر متانول بود. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال $(1 - A_s/A_c) \times 100$ (DPPH) محاسبه شد. در این معادله A_c جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد، A_s جذب DPPH به همراه نمونه می‌باشد. از متانول نیز به عنوان بالانک استفاده شد.

اسانس گیری

برای استخراج اسانس از نمونه خشک شده اندام هوایی و به روش تقطیر با آب مقطر توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. بازده اسانس به روش حجمی - وزنی و براساس وزن خشک نمونه‌ها محاسبه گردید. سپس اسانس‌ها با استفاده از

(DMSO) خالص به آن اضافه کرده و به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملاً بی‌رنگ شود. سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته و به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب محلول به دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت گردید. سپس مقدار کلروفیل a و b و کل با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد. برای نمونه شاهد از DMSO استفاده شد.

$$\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times \frac{(22.7 \times OD\ 663) - (2.69 \times OD\ 645)}{1000 \times \text{وزن نمونه}} = \text{کلروفیل } a$$

$$\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times \frac{(22.7 \times OD\ 645) - (4.68 \times OD\ 663)}{1000 \times \text{وزن نمونه}} = \text{کلروفیل } b$$

$$\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times \frac{(20.2 \times OD\ 663) + (2.02 \times OD\ 645)}{1000 \times \text{وزن نمونه}} = \text{کلروفیل کل}$$

کاروتنوئید

همانند اندازه‌گیری کلروفیل از روش بارنز (۹) استفاده گردید. بر اساس این روش ۰/۵ گرم از نمونه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید اسید خالص به آن اضافه کرده و به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملاً بی‌رنگ شود. سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته و به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و سپس میزان جذب محلول به دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت شد. سپس مقدار کاروتنوئید کل با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد. برای نمونه شاهد از DMSO استفاده شد.

$$\text{میزان رقت} \times \text{حجم} \times \frac{(7.6 \times OD\ 480) - (2.49 \times OD\ 510)}{1000 \times \text{وزن نمونه}} = \text{کاروتنوئید کل}$$

فنل کل

میزان ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (۴). برای استخراج روش کار به این صورت است که ۲۰ میکرولیتر از عصاره متانولی ۸۰ درصد تهیه شده با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به محلول فوق اضافه شد. پس از ۵ دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به محلول

سولفات سدیم خشک آبیگری و تا زمان آنالیز در یخچال و در تاریکی نگهداری شد. درصد بازده اسانس با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$۱۰۰ \times (\text{وزن خشک گیاه} / \text{وزن اسانس}) = \text{درصد بازده اسانس}$$

پولگون

برای اندازه‌گیری پولگون از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل shimadzu 2014 مجهز به سنجنده FID و ستون BP-5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. برنامه دمایی آون به این صورت تنظیم شد که دمای ابتدایی آن ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و دمای انتهایی ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و گرادیان حرارتی ۱۰ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه بود. دمای اتاق تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و از گاز نیترژن به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

برای اندازه‌گیری برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در هر رویشگاه از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه تهیه شد. نیترژن خاک با روش نیتراسیون بعد از تقطیر و با استفاده از سیستم کجل تک اتوآنالیزر^۱ انجام شد و برای اندازه‌گیری فسفر خاک از روش اولسن^۲ استفاده شد (۳۳).

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه آماری SAS نسخه ۹/۱ و جهت مقایسه میانگین تیمارها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد رویشگاه تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی صفات مورفولوژیک مورد بررسی گیاه پونه داشت (جدول ۲). با توجه به نتایج به دست آمده مقایسه میانگین، ارتفاع و تعداد گل گیاه پونه در منطقه گت لاش با ارتفاع ۲۰۰ متر از سطح دریا نسبت به بقیه مناطق بطور معنی‌داری بیشتر بود در حالی که کمترین میزان ارتفاع و تعداد گل در منطقه پرده با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا مشاهده شد (جدول ۳). بیشترین تعداد برگ در رویشگاه‌های بلقلم، گت لاش و واش ورین و کمترین تعداد برگ در رویشگاه بندریکا مشاهده شد در حالیکه بیشترین و کمترین تعداد شاخه به ترتیب در مناطق سیوزمین و واش ورین وجود داشتند (جدول ۳). بیشترین تعداد بند نیز در منطقه گت لاش با ۲۲ عدد و کمترین میزان بند در منطقه بندریکا با ۱۶ عدد مشاهده شد که بین مناطق مختلف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول

(۳).

نتایج نشان داد رویشگاه تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل در سطح آماری ۵ درصد داشته است (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد منطقه سیوزمین کمترین میزان کلروفیل a را داشت و با اینکه بین بقیه مناطق تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، منطقه واش ورین با میزان ۱۰/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین میزان کلروفیل a را داشت (شکل ۱-A). منطقه سیوزمین کمترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در بین مناطق مورد بررسی دارا بود با اینحال دو منطقه گت لاش و بلقلم به ترتیب بیشترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل را در بین رویشگاه‌ها داشتند (شکل ۱-B و C). محتوای کاروتنوئید کل در سطح احتمال یک درصد تحت تاثیر رویشگاه‌ها قرار گرفتند (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بین رویشگاه‌های اختلاف معنی‌داری وجود داشته که بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به ترتیب در مناطق واش ورین با ۶/۰۱ و سیوزمین با ۴/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد (شکل ۱-D).

نتایج تجزیه واریانس حاکی از آن بود که تاثیر رویشگاه بر میزان فعالیت آنتی اکسیدان در سطح آماری یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴). مقایسه میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به رویشگاه پرده و کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در منطقه گت لاش مشاهده شد (شکل ۲). نتایج مربوط به محتوای فنل و فلاونوئید نشان داد تیمار رویشگاه تاثیر معنی‌داری بر آنها نداشت (جدول ۴). مقایسه میانگین صفات هم نشان داد هرچند بیشترین میزان فنل و فلاونوئید به ترتیب در منطقه پرده و گت لاش بدست آمد اما بین رویشگاه‌ها از نظر محتوای فنل و فلاونوئید از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳-A و B).

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد رویشگاه اثر معنی‌داری در سطح آماری یک درصد بر میزان اسانس داشته است (جدول ۴). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، درصد اسانس در رویشگاه گت لاش با ارتفاع ۲۰۰ متر از سطح دریا در مقایسه با بقیه رویشگاه‌ها به طور معنی‌داری بیشتر بود. رویشگاه واش ورین کمترین میزان اسانس را به خود اختصاص داده بود (شکل ۳-C). نتایج تجزیه واریانس نشان داد میزان پولگون در سطح آماری یک درصد تحت تاثیر رویشگاه قرار گرفت (جدول ۴). مقایسه میانگین نشان داد میزان پولگون بین رویشگاه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشته است بطوریکه با افزایش ارتفاع رویشگاه‌ها میزان پولگون افزایش معنی‌داری داشته است. بیشترین میزان پولگون در منطقه پرده با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا و کمترین میزان پولگون در رویشگاه بلقلم با ارتفاع ۱۵۰۰ متر از سطح دریا بدست آمد. البته بین مناطق بلقلم، بندریکا و سیوزمین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۳-D).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

Table 2. ANOVA of morphological traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	ارتفاع Height	تعداد گل Flowers number	تعداد برگ Leaves number	تعداد شاخه Shoots number	تعداد گره Nodes number
رویشگاه (Habitats)	5	2300**	14.9**	11.7**	10.4**	12.8**
خطا آزمایش (Error)	12	0.00003	0.0005	0.001	0.0002	0.0001
ضریب تغییرات CV	-	4.3	3.4	4.1	3.2	3.2

** نشانگر معنی دار بودن در سطح آماری ۱ درصد است.

**Significant at the 1% level of probability

جدول ۳- صفات مورفولوژیک گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

Table 3. Mean comparison of morphological traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

رویشگاه (Habitats)	ارتفاع Height (cm)	تعداد گل در بوته Number of flower in plant	تعداد برگ Number of leaves	تعداد شاخه Number of shoots	تعداد گره Number of nodes
بلقلم (Belghalam)	123 ^c	12 ^b	25 ^a	23 ^{bc}	19 ^b
بندریکا (Banderika)	137 ^b	15 ^a	20 ^c	26 ^a	16 ^c
سیوزمین (Sivzamin)	105 ^d	12 ^b	23 ^b	27 ^a	19 ^b
گت لاش (Gate Lash)	162 ^a	16 ^a	25 ^a	24 ^b	22 ^a
واش ورین (Vash Varin)	100 ^e	12 ^b	25 ^a	22 ^c	19 ^b
پردمه (Pardameh)	86 ^f	10 ^c	23 ^b	24 ^b	17 ^c

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD هستند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($p < 0.05$) using LSD test.

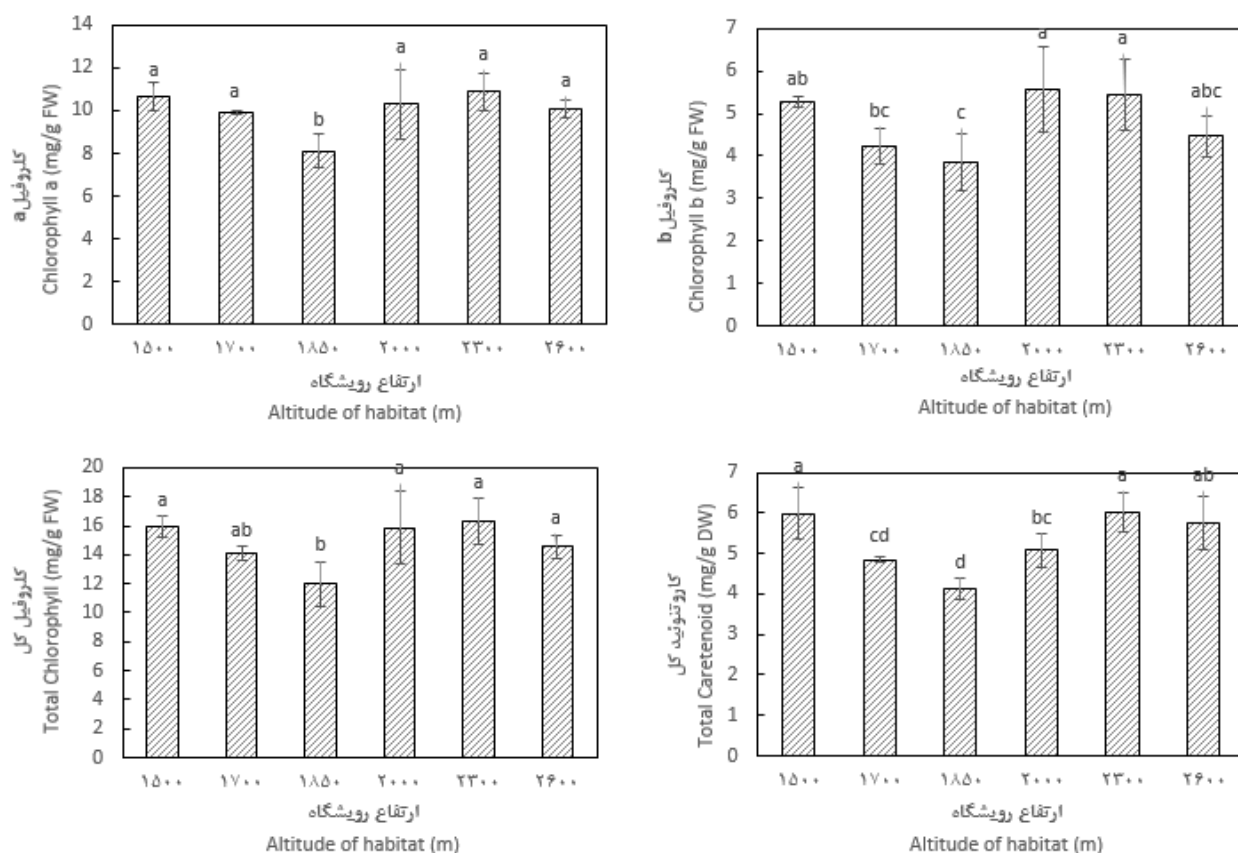
جدول ۴- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی گیاه پونه در شش رویشگاه مختلف

Table 4- ANOVA of biochemical traits of *Mentha longifolia* L. in six habitats

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g DW)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/g DW)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g DW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/g DW)	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity (%)	فنل کل Total phenol (mg/g DW)	فلاونوئید کل Total flavonoid (mg/g DW)	اسانس Essential oil yield (%)	پولگون Pulegone (ppm)
رویشگاه (Habitats)	5	2.9 *	1.54*	8*	1.7**	0.08**	0.83**	0.08**	0.08**	15893519**
خطا آزمایش (Error)	12	0.77	0.43	2.1	0.22	0.011	1.25	0.14	0.0085	199349
ضریب تغییرات CV	-	8.8	13.6	9.8	8.8	13	18.7	12.2	18.2	22.9

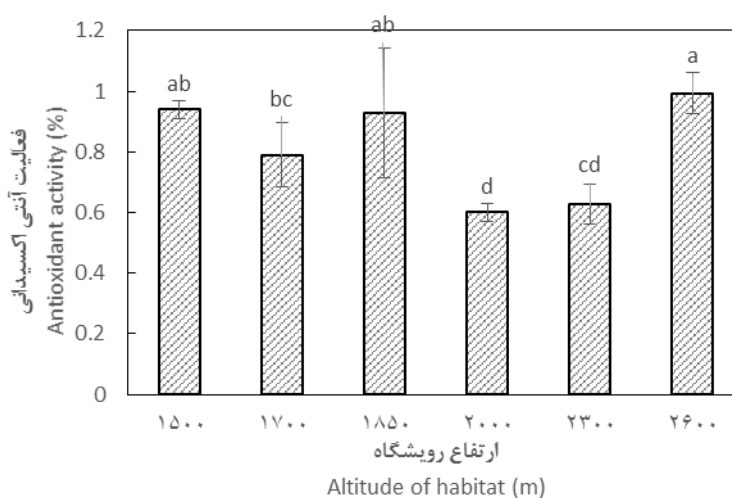
** و * به ترتیب نشانگر معنی دار بودن در سطح آماری ۱ و ۵ درصد و بدون علامت نشانگر عدم معنی دار بودن است.

** , * Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively



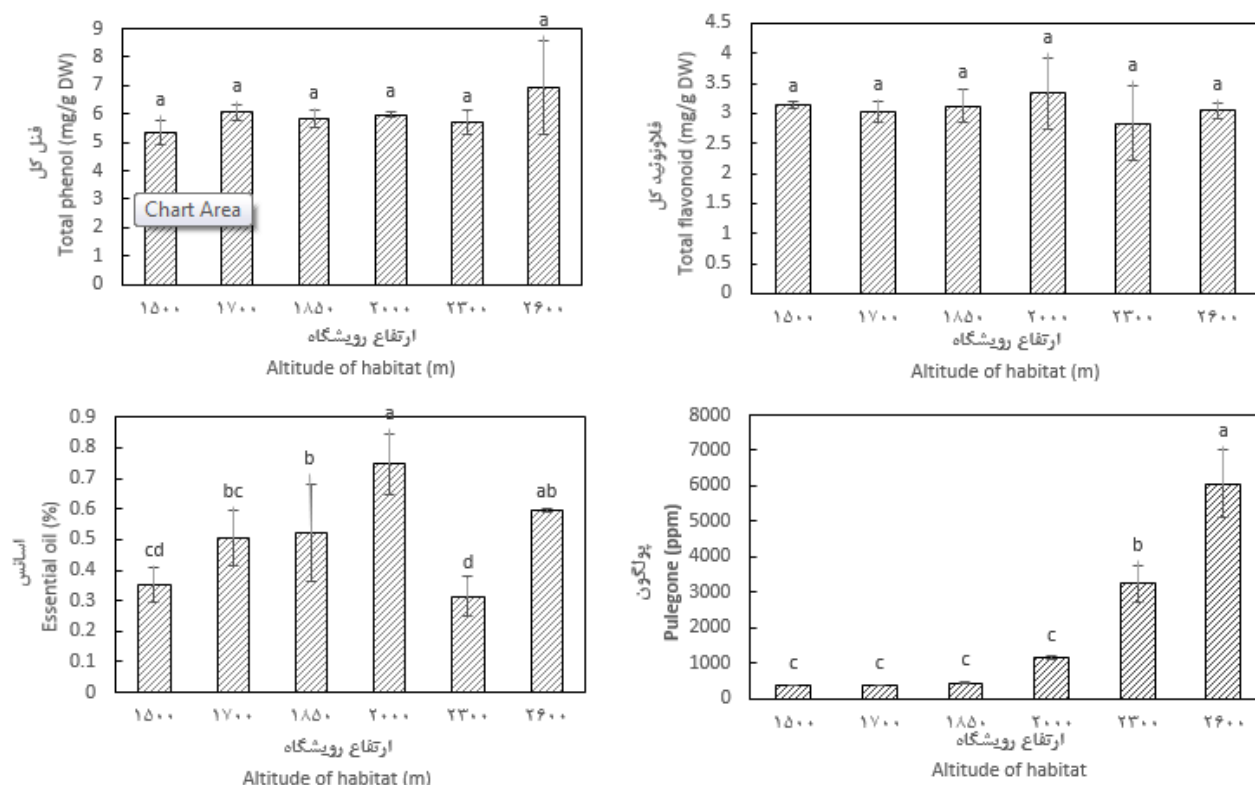
شکل ۱- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیوزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لاش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر محتوای کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C) و کاروتنوئیدها (D) گیاه پونه

Figure 1- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on contents of chlorophyll a (A), chlorophyll b (B), total chlorophyll (C) and carotenoids (D) of *Mentha longifolia* L. (LSD, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیوزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لاش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه پونه

Figure 2- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on antioxidant activity of *Mentha longifolia* L.



شکل ۳- تاثیر رویشگاه‌های مختلف (بلقلم (۱۵۰۰ متر)، بندریکا (۱۷۰۰ متر)، سیزمین (۱۸۵۰ متر)، گت لاش (۲۰۰۰ متر)، واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر)) بر فنل کل (A)، فلاونوئید کل (B)، اسانس (C) و بولگون (پی‌پی‌ام) (D)

Figure 3- The effect of different habitats (Belqalam (1500 m), Banderica (1700 m), Siozmin (1850 m), Gat Lash (2000 m), Vash Verin (2300 m) and Pardemeh (2600 m) on total phenol (A), total flavonoid (B), Essential oil (C) and Pulegone (D) content of *Mentha longifolia* L.

بحث

که گیاهان رویشگاه جلفا دارای بیشترین طول ساقه گلدار، طول دومین میانگره، طول و عرض برگ، تعداد انشعاب‌های ساقه در بین رویشگاه‌های مورد مطالعه می‌باشند که از نظر برداشت گیاهان دارویی ارزش بالایی دارند. ارتفاع متفاوت گیاهان مشابه در مناطق مختلف می‌تواند به عوامل زیادی از جمله شرایط اکولوژیکی به ویژه میزان رطوبت نسبی و همچنین بارندگی و تعداد ساعات آفتابی مرتبط باشد. به علاوه درجات مختلف غنای خاک نیز در این مورد موثر است. نتایج نشان داد بیشترین تعداد گل و تعداد بند در منطقه گت لاش و ارتفاع ۲۰۰۰ متر ثبت شده است که بیشتر از این ارتفاع در دو منطقه واش ورین (۲۳۰۰ متر) و پردمه (۲۶۰۰ متر) با کاهش در تعداد گل همراه بود. کمترین میزان تعداد برگ در بوته در منطقه بندریکا با ارتفاع ۱۷۰۰ متر مشاهده شد و در بقیه مناطق تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از آنجا که برگ‌ها معمولاً اسانس بیشتری دارند (۲۷)، بنابراین هر چه نسبت برگ و اندام‌های رویشی به گل بیشتر باشد باعث افزایش میزان اسانس می‌شود. در بررسی میانگین صفات مختلف جمعیت گیاه بومادران هزار برگ (*Achillea millefolium* L) در آذربایجان شرقی بیشترین طول میانگره، طول برگ، قطر چتر گل و

طبق نتایج بدست آمده از لحاظ مورفولوژیکی و بیوشیمیایی بین رویشگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت که می‌تواند دلیل آن عوامل محیطی از جمله تغییرات ارتفاع از سطح دریا باشد، به طوریکه ارتفاع بالای گت لاش با ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا، صفات مورد بررسی در این تحقیق دارای بیشترین تاثیرپذیری از افزایش ارتفاع بودند. تا ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا، صفات مورفولوژی گیاه پونه با افزایش همراه بود اما افزایش بیشتر ارتفاع باعث کاهش این صفات شده بود. از آنجا که ارتفاع گیاه و تیپ رشد بوته از صفات مهم مورفولوژیک است جهت اصلاح رقم مناسب برای برداشت مکانیزه باید مدنظر قرار گیرد. به گزارش رضایی و همکاران (۲۹) ارتفاع گونه‌های مختلف نعنای در مناطق مختلف کشور که شامل قزوین، اردبیل، تهران، یزد و گیلان بودند، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که گونه لانگیفولیا (وارته آمفی لما) از قزوین بیشترین ارتفاع گیاه را داشت. در گزارش دیگری، نتایج یآوری و همکاران (۳۵) بر روی آویشن آذربایجانی نشان دادند

گردید بطوریکه بیشترین و کمترین میزان کلروفیل کل به ترتیب از جمعیت‌های فارس منطقه خفر ۲ و مازندران منطقه نور بدست آمد. همچنین جمعیت‌های اصفهان ۲، مازندران، قائم‌شهر و یاسوج از نظر صفات ارزشمند بیوشیمیایی عصاره نظیر آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و کربوهیدرات‌ها تیمار برتر بودند. سعیدی و همکاران (۳۰) گزارش کردند میزان کاروتنوئید کل در گیاه نسترن کوهی در مناطق مختلف ایران بین ۱/۱-۰/۱۹۵ میلی گرم بر گرم وزن تر متغیر بود. در این تحقیق بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید به ترتیب از رویشگاه کردستان (دیوان دره) و بویراحمد (میمند) به دست آمد. آنها اذعان داشتند عوامل آب و هوایی، فاکتورهای جغرافیایی و شرایط خاک می‌تواند باعث تغییر در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شود. فلاونوئیدها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و در تنظیم فعالیت‌های آنزیمی و تولید متابولیت‌های اولیه نقش دارند. میزان فلاونوئیدها در گونه‌های مختلف گیاهی با مرحله رشد، بافت، وارسته، تنش‌های محیطی مانند اشعه ماوراء بنفش، خشکی، شرایط خاک، شخم و بیماری‌ها مرتبط می‌باشد (۱۷). قاسمی و همکاران (۱۶) با بررسی تاثیر فاکتورهای محیطی بر میزان آنتی اکسیدان‌ها، ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها در گیاه گردو به این نتیجه رسیدند که بیشترین میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در منطقه آبلعی با بیشترین ارتفاع و کمترین میانگین دمای روزانه بدست آمد. محققین دیگر نیز بیان داشتند که در ارتفاعات بالاتر از ۲۱۰۰ متر، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی وجود دارد (۲۱). طجالی و خازئی‌پور (۳۱) با بررسی تاثیر ارتفاع بر روی فنل کل و فلاونوئیدهای گیاه *Cerategus microphylla* بیان داشتند که این گیاه در ارتفاع ۱۰۰۰ متری دارای بیشترین میزان ترکیبات نامبرده نسبت به گیاهان رشد یافته در ارتفاعات پست بود.

نتایج مربوط به بازدهی اسانس استخراج شده از اندام هوای پونه نشان داد منطقه گت لش در ارتفاع ۲۰۰۰ متر بیشترین و در منطقه واش ورین کمترین میزان بازدهی اسانس را داشته است. درجه حرارت مناسب برای رشد و نمو و افزایش اسانس در نعنای ۱۸ تا ۲۰ سانتی-گراد است. درجه حرارت بالاتر باعث تغییراتی در ترکیب اجزاء اسانس می‌گردد به عنوان مثال در نعنای فلفلی افزایش دما (۲۲ تا ۲۵ درجه سانتیگراد) باعث کاهش متول می‌شود (۲۷). به نظر می‌رسد که افزایش دما تا حدی باعث سنتز بیشتر اسانس نعنای می‌شود. این مساله به دلیل فعال شدن آنزیم‌های اختصاصی گیاه و مسئول تولید سنتز اسانس بوده و یا به دلیل افزایش فتوسنتز کارایی تولید اسانس در گیاه را بالا ببرد. میزان اسانس در بررسی زینلی و همکاران (۳۷) ۰/۸ تا ۲/۱ درصد گزارش شده است که بیشتر از میزان اسانس استخراجی از نتایج این تحقیق می‌باشد. یزدانی و همکاران (۳۶) میزان اسانس نعنای فلفلی را ۱/۴۵ تا ۳/۲ درصد گزارش کردند (یزدانی و همکاران، ۱۳۸۱). در گزارش دیگری حبیبی و همکاران

تعداد گل آذین در بوته مربوط به رویشگاه شبستر گزارش شد که این ویژگی‌ها از نظر عملکرد اسانس دارای اهمیت زیادی می‌باشند (۱۴). به طور کلی افزایش تعداد شاخه اصلی و شاخه‌های فرعی باعث افزایش بیوماس و عملکرد تولیدی می‌شود و از این نظر می‌تواند یک فاکتور مناسب جهت انتخاب اکوتیپ‌های برتر مدنظر قرار بگیرد (۲۳). تحقیقات میرزایی ندوشن و همکاران (۲۲) بر روی ۴ گونه *M. aquatic*، *M. piperita*، *M. spicata*، *longifolia* در شرایط مزرعه‌ای نشان داد که ارتفاع نعنای‌های مورد بررسی به ترتیب ۱۲۱، ۷۸، ۶۲/۸ و ۷۷ سانتی متر بودند. در تحقیقات نامبردگان طول برگ گونه‌های نعنای نیز به ترتیب ۶، ۷/۵، ۵/۵ و ۳/۹ سانتی متر گزارش گردید و قطر ساقه آن‌ها به ترتیب ۷/۶، ۴/۸، ۴/۳ و ۵/۱ میلی متر بود که بیشترین درصد اسانس برگ در گونه *M. longifolia* با ۱/۷۷ درصد و کمترین میزان آن در گونه *M. aquatica* با ۰/۴۳ درصد مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده، می‌توان گفت ارتفاع متفاوت همراه با دیگر شرایط محیطی از جمله کیفیت خاک، دما، میزان بارندگی و نور عواملی هستند که باعث تفاوت‌های مورفولوژی مشاهده شده در این رویشگاه‌ها می‌باشند. خصوصیات مختلف خاک، برگ‌چگونگی رشد و نمو و نیز بر میزان مواد موثره گیاهان تاثیر دارد. ولی نمی‌توان فقط به خصوصیات فیزیکی یا فقط به خصوصیات شیمیایی یک خاک از این نظر اکتفا نمود. کاشت و تکثیر یک گونه گیاه در خاک‌های کاملاً مشابه، ممکن است منجر به حصول نتایج متفاوتی از نظر مواد دارویی یا حتی چگونگی رشد و نمو گردد. زیرا ممکن است جذب و سوخت و ساز گیاه تحت تاثیر عوامل محیطی دیگر قرار گرفته باشند.

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه تحت شرایط و رویشگاه‌های مختلف اهمیت زیادی دارد که می‌تواند بر رشد و عملکرد گیاه تاثیرگذار باشد (۱۸). ارتفاع از سطح دریا عاملی است که تاثیرگذاری زیادی بر روی صفات فیزیولوژیکی گیاهان می‌گذارد بطوریکه گیاهان برای بهبود شرایط فتوسنتزی خود در ارتفاعات مجبور به تعدیل تعداد کلروپلاست‌ها، کاهش اندازه کلروپلاست و دانه‌های نشاسته در کلروپلاست در سلول می‌شود (۳۱). در این آزمایش، هر چند در منطقه سیوزمین با ارتفاع ۱۸۵۰ متر با کاهش در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی همراه بود اما بین مناطق دیگر تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. کاهش مقدار کلروفیل و افزایش نسبت کاروتنوئید به کلروفیل نیز به عنوان سازگاری گیاهان در محافظت در برابر اکسیداسیون نوری در ارتفاعات بالا تلقی می‌شود. غنی و همکاران (۱۵) به منظور بررسی تنوع بیوشیمیایی ۲۵ اکوتیپ از گیاه نعنای خوراکی^۱ گزارش کردند بین جمعیت‌های مورد مطالعه از نظر میزان کلروفیل (a، b و کل)، کاروتنوئید، فلاون، فلاونول و فلاونوئید کل تفاوت معنی‌داری مشاهده

1- *Mentha spicata* L

(۱۹) با آزمایشی که بر روی گیاه آویشن وحشی انجام دادند، دریافتند که در ارتفاعات کمتر میزان اسانس افزایش می‌یابد. در این بررسی نمونه‌های گیاه فئق در ارتفاعات ۱۸۰۰ تا ۲۸۰۰ متری به فواصل ۲۰۰ متر برداشت شده و پس از اسانس‌گیری مشخص شد که میزان اسانس در ارتفاع ۱۸۰۰ متری بیشتر از بقیه نقاط بود که تا اندازه‌ای مطابق نتایج بدست آمده در این تحقیق بود. در بررسی دیگری مشخص شد که میزان اسانس برگ بومادران با افزایش ارتفاع کاهش یافت. در این مطالعه که در رویشگاه سیاه بیشه در استان مازندران انجام شد، اسانس برگ گیاه بومادران در ارتفاع ۲۲۰۰ متر نسبت به ارتفاع ۲۱۰۰ متری به طور معنی‌داری کاهش یافت (۷). می‌توان تفاوت‌های تنوع عملکردی در محتوای کل اسانس در مناطق مختلف را به تفاوت ژنتیکی و تا اندازه‌ای تفاوت در اقلیم مناطق مختلف رویش این گیاه و همچنین زمان جمع‌آوری مربوط دانست. با توجه به نتایج بدست آمده افزایش دما، نور و کاهش ارتفاع از سطح دریا باعث تاثیر بر میزان اسانس گیاه می‌شوند ولی برای مشخص شدن میزان عملکرد گیاه و اسانس در واحد سطح نیاز به بررسی‌های بیشتری با کشت گیاهان می‌باشد.

پولگون یکی از مهمترین ترکیبات موجود در گیاه پونه است که اهمیت دارویی زیادی دارد. نتایج ما در این تحقیق نشان داد با افزایش ارتفاع مناطق مورد بررسی، بطور معنی‌داری میزان پولگون افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان پولگون (۶۰۶۹/۱ پی‌پی‌ام) در منطقه پردمه با ارتفاع ۲۶۰۰ متر از سطح دریا مشاهده شد که با افزایش زیادی نسبت به مناطق دیگر همراه بود. آسکون و همکاران (۵) میزان پولگون موجود در اسانس نناع گونه لانگیفولیا را بین ۱۸/۴ تا ۳۵ درصد گزارش کردند. تجلی و همکاران (۳۲) گیاه کافوری را از نظر ترکیبات تشکیل دهنده آن مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند که پولگون نیز یکی از اجزای اسانس این گیاه را تشکیل می‌دهد. میزان این ماده در اسانس گیاه کافوری در مناطق همدان، اراک و شهرکرد با هم متفاوت بود و شرایط اقلیمی بر درصد این ماده در اسانس موثر بوده

است. با توجه به این که مهمترین ترکیب در اسانس این گونه، پولگون است و ارزش اقتصادی و دارویی آن وابسته به میزان پولگون موجود در آن است، بنابراین هدف اصلی از بهره‌برداری این گیاه، استخراج میزان پولگون در آن می‌باشد. کولمان و همکاران (۱۲) اظهار داشتند که اختلاف در کیفیت طبیعی اسانس گونه‌های جنس *Mentha* به عوامل ذاتی (ژنتیک یا قابلیت وراثت از ساقه، وضعیت بلوغ و ...) و عوامل بیرونی (نور خورشید، آب، حرارت، فشار، ارتفاع، خاک و ...) که در رشد گیاه و میزان اسانس تاثیر می‌گذارد، بستگی دارد که البته با نتیجه تحقیق حاضر نیز تایید می‌گردد. در نهایت با توجه به اینکه مهمترین مساله در برنامه‌های اصلاحی وجود تنوع ژنتیکی است، به نظر می‌رسد پونه جمع‌آوری شده از منطقه پردمه و واش ورین بالاترین میزان پولگون را بین سایر رویشگاه‌ها دارند و می‌تواند به عنوان نمونه‌های امیدبخش در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به اهمیت و کاربرد فراوان متابولیت‌های ثانویه در زندگی امروزی بشر بررسی وجود ارتباط با شرایط محیطی با تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌تواند بسیار مفید باشد. نتایج ما نشان داد شرایط اقلیمی تاثیر شگرفی بر روی خصوصیات مورفولوژیکی گیاه پونه دارد که در نتیجه باعث افزایش یا کاهش اسانس می‌شود. در تحقیق حاضر اگرچه بهترین رویشگاه از نظر داشتن بالاترین میزان پولگون اکوتیپ پردمه می‌باشد، ولی رویشگاه گت لش به جهت داشتن بازده اسانس بیشتر و میزان پولگون نسبتا خوب می‌تواند یک رویشگاه مناسب جهت اهلی‌سازی و کشت این گیاه مطرح باشد، به همین منظور، بررسی رویشگاه‌های مختلف این گونه در سایر نقاط کشور برای دستیابی به بهترین اکوتیپ‌ها توصیه می‌شود.

منابع

1. Akbarzadeh M. 2004. Medicinal plants of labiate family in Vas location in Mazandaran. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 1(19):36-45.
2. Akhbari M., Aghajani Z., Karimi E., and Mazoochi A. 2016. Composition analysis of essential oil and biological activity of oily compounds of *Mentha longifolia*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 6(21):59-66.
3. Akowuah G.A., Ismail Z., Norhayati I., and Sadikun A. 2005. The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. Food Chemistry, 93(2):311-317
4. Anonymus. 2000. Quantification of Tannins in Tree Foliage. p. 4-5.
5. Asekun O.T., Grierson D.S., and Afolaya, A.J. 2007. Effect of drying methods on the quality and quantity of the essential oil of *Mentha longifolia* L. subsp. Capensis. Food Chemistry, 10:995-998.
6. Azarkish P. 2015. Evaluation of morphological and phytochemical diversity of some horsemint (*Mentha Longifolia* L.) ecotypes in South West of Iran. M.Sc. Thesis in Horticulture Ferdowsi Univesity of Mashhad. [In Persion]

7. Azarnivand H., Ghavam Arabani M., Sefidkon F., and Tavili A. 2010. The effect of ecological characteristics on quality and quantity of the essential oils of *Achillea millefolium* L. subsp. *Millefolium*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 25(4):556-571 (in Persian with English abstract)
8. Bajalan I., Akbarzadeh M., Qalayi E., and Yarahmadi, E. 2013. Comparison of chemical compition of essential oil of *Mentha longifolia* L. from two regions of Iran. Canadian journal of pure and applied sciences. 7(3):2541-2543.
9. Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., and Davison A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in the lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany. 32(2):85-100.
10. Barzin G., Mazooji A., and Salimpour, F. 2014. Essential oil composition of four varieties of *Mentha longifolia* L. From northern parts of Iran. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, 4(2):639-643
11. Brown B. 2003. Mint soil fertility research in the PNW. Western Nutrient Management Conf. 5(3): 54-60.
12. Coleman W.M., Perfetti T.A., and Suberjr, R.L. 1998. Quantitive analysis of menthol isomer distributions in selected samples. Journal of Chromatographic Science, 36:318-321.
13. Gaeini Z., Sohrabvandi S., Sobhani R., and Soleimani M. 2013. Characteristics of pennyroyal essential oils. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology, 7(5):661-668. [In Farsi]
14. Ghanbari M., Souri M.K., Omidbaigi R., and Mirzaei H.H. 2014. Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Achillea millefolium* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 30(5):692-701 (in Persian with English abstract)
15. Ghani A., Nemati S.H., Azizi M., Saharkhiz M.J. and Farsi M. 2014. The study of extract biochemical variations contents some of spearmint (*Mentha spicata* L.) Population. Journal of horticulture science. 4(27):433-443.
16. Ghasemi K., Ghasemi Y., Ehteshamnia A., Nabavi M., Nabavi F., Ebrahimzadeh A. and Pourmand F. 2011. Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoid content of walnut. Medicinal Plant, 5(7):1128-1133.
17. Ghorbani A., Razavi S.M., Ghasemi Omran V.O., and Pirdashti H. 2018a. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. Russian Journal of Plant Physiology, 65(6):898-907
18. Ghorbani A., Razavi S.M., Ghasemi Omran V.O., and Pirdashti H. 2018b. *Piriformospora indica* inoculation alleviates the adverse effect of NaCl stress on growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Plant Biology, 20(4):729-736.
19. Habibi H., Mazaheri D., Majnoon Hoseini N., and Chaechi M.R. 2007. Effect of altitude on essential oil and components in wild thyme (*Thymus kotschyanus* Boiss.) Taleghen region. Pajouhesh-va-Sazandegi, 73:2-10.
20. Huang D.J., Chun-Der L., Hsien-Jung C., and Yaw-Huei L. 2004. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 45:179-186.
21. Jaakola L., Maatta-Riihinen K.R., Karenlampi S., and Hohtola A. 2004. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. Planta, 218(5):721-728.
22. Mirzaie-nadoushan H., Rezaie M., and Jaimand K. 2001. Path analysis of the essential oil-related characters in *Mentha* spp. Flavour and Fragrance Journal, 16: 340-343.
23. Moghadam M., Omidbeygi R., Salimi A., Naghavi M.R. 2007. An assessment of genetic diversity among iranian populations of Basil (*Ocimum* spp.) using morphological traits. Iranian Journal of Horticultural Science. 44(3): 227-243 (in Persian with English abstract)
24. Mozaffarian V. 2013. A dictionary of Iranian plant names. Farhang Moaser Publishers Press. Tehran, Iran, pp: 228-230. [In Persian with English abstract]
25. Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed M., and Ghorbani A. 2005. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2:63-79.
26. Omidbeaigi R. 2013. Production and processing of medicinal plants. Vol. I. Behnashr Press. Mashhad, Iran. 347 P. [In persian with English abstract]
27. Omidbeygi R. 2006. Production and processing of medicinal plants, Volume I. Publisher: Astan Quds Razavi (Mashhad), 397p.
28. Rai-Dehagi H., Razmjoo J., Sabzaliyan M.R., and Arzani A. 2014. Effect of shading on morphological characteristics and essential oil content in different of genotypes of three species of mint. Journal of Plant Process and Function, 4(13): 58-69.
29. Rezaei M.B., Jaymand K., and Jamzad Z. 2000. Chemical constituents of *Mentha longifolia* (L.) Hudson var. *chlorodictya* Rech. f. from three different localities. Pajouhesh-va-Sazandegi. 13:60-63 (in Persian with English abstract)
30. Saeidi K., Sefidkon F., and Babaei A. 2014. Determination of carotenoids and lycopene content of dog-rose (*Rosa canina* L.) fruit in different regions of Iran. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 30(5):839-842.
31. Tajali A., and Khazaeipoor M. 2002. Effect of height and organs on flavonoids of *Crataegus microphylla*. International Journal of Biosciences. 7:54-58.

32. Tajali A.A., Amin G.R., and Gandomkar, G.A. 2009. Study and identification compounds of essential oil of *Camphorosma monspeliaca* in different phenological stages in Arak, Hamedan and Shahr-e-Kord rangelands. *Rangeland*. 3(2): 302-316 (in Persian with English abstract)
33. Tandon H.L.S. (Ed.). 1995. Methods of analysis of soils, plants, waters and fertilisers. New Delhi, India: Fertilisers Development and Consultation Organization.
34. Teixeira B., Marques A., Ramos C., Batista I., Serrano C., Matos O., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A., and Nunes M.L. 2012. European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36: 81-87.
35. Yavari A.R., Nazeri V., Sefidkon F., and Hassani M.E. 2010. Evaluation of some ecological factors, morphological traits and essential oil productivity of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 26(2):227-238 (in Persian with English abstract)
36. Yazdani D., Jamshidi A.H., and Mojab F. 2002. Comparison on menthol content of cultivated peppermint at different regions of Iran. *Journal of Medicinal Plants*. 3:73-78 (in Persian with English abstract)
37. Zeinali H., Arzani A., and Razmjo K. 2004. Morphological and essential oil content diversity of Iranian minhs (*mentha* spp). *Iranian Journal of Science & Technology, Transaction A*, 28 No. A1.



Study of the Effect of Habitat on Morphological and phytochemical traits of Horsemint (*Mentha longifolia* L.)

M. Eisapoor^{1*} - Kh. Hemmati² - N. Hemmati³

Received: 02-03-2019

Accepted: 27-11-2019

Introduction: Horsemint (*Mentha longifolia* L.) is a valuable medicinal and aromatic plant belonging to Lamiaceae family. It was reported that the contents and composition of perceived pharmacological properties varied significantly among populations. The genus *Mentha* L. (Lamiaceae), is widely distributed in all continents (except in South America and Antarctica). The systematic of the genus is not very elucidated because of the strong morphologic variations, levels of ploidy ($2n = 2x = 24$ to $2n = 6x = 96$), and hybridizations intra- and interspecific (or between spontaneous and cultivated forms). *M. longifolia* or horsemint is a fast-growing and perennial herb which cultivated in all regions. The species possesses antimicrobial and antioxidant properties. The antimicrobial properties of the essential oils can be attributed to the presence of pulegone, menthone and neomenthone because they can destroy the structure of different polysaccharides, fatty acids and phospholipids by altering the permeability of the cell membrane and destroying the bacterial wall. The essential oils of horsemint are said to be cyclohexane and aromatic, and pulegone is the main compound of these oils has a definite aroma in the range of intense to spicy mint. The effects of environmental conditions on the plant growth and development, reproduction and distribution are well known in plant ecology. Many studies have been carried out about the relationships among plant chemical contents, biological activity and environmental variables in the natural and cultivated plant species. This information has been used to determine the medicinal value and economic importance of plant products.

Materials and Methods: In this research, the effects of six habitats with different altitudes (habitats of Amol city) on some morphological and biochemical characteristics of horsemint plants were investigated in a completely randomized design with three replications. This study was done to compare the amount of pulegone, total phenol, total flavonoids, antioxidant activity, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and also morphological features of horsemint such as number of leaves per plant, number of branches per plant, number of flowers and number of nodes. For antioxidant properties using DPPH method in 517 nm wavelength, total amount of phenol using Folin-Ciocalteu method in 765 nm wavelength and the total amount of flavonoid were done using the aluminum chloride method in 415 nm wavelength and they were measured by spectrophotometer. Essential oil was extracted from dried aerial parts using distillation by Clevenger apparatus for 3 hours. Gas chromatography (GC) was used to measure pulegone.

Results and Discussion: The results showed that the altitude and ecotype significantly affecting the growth and biochemical characteristics of horsemint plant. The highest number of leaves (25) and the shoots (27) of horsemint were obtained in the Gat Lash region with 2000 meters and Siozmin with 1850 meters above sea level, respectively. Gat Lash and Siozmin had the highest and lowest content of photosynthetic pigments, respectively. Although there was no significant difference between the content of phenol and flavonoids in different habitats, the highest rates were observed in the Pardemeh and Gat Lash habitats. The results showed that the highest and lowest oil were obtained from ecotypes of Gat Lash with 2000 meters and Vash Verin with 2300 meters above sea level, respectively. As the height increased, the amount of pulegone was also increased in the leaves, so that the highest amount of pulegone was found in Pardemeh (6069 ppm) habitat by 2600 meters above sea level.

Conclusions: Generally, for obtaining the highest essential oil content and pulegone, the best ecotypes were Gat Lash and Pardemeh habitats, respectively. Due to the importance and usage of secondary metabolites in the human life, investigating the relationship between environmental conditions with the production and accumulation of secondary metabolites in plants can be very useful. Our results showed that the climatic conditions had a significant effect on the morphological characteristics of the horsemint, thereby increasing or decreasing the essential oil. In the present study, the best habitat for the highest pulegone was Pardemeh habitat

1- M.Sc of Medicinal Plants, Sana Higher Education Institute, Sari

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

2- Associate Professor of Horticulture Science, Faculty of Plant Production, Gorgan Agricultural Science and Natural Resources

3- Ph.D of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

but the habitat of Gat Lash could be a suitable habitat for domestication and cultivation of this plant because of its higher essential oil yield and relatively good pulegone content. For this purpose, it is recommended to study different habitats of this species in other parts of the country for finding the best ecotypes.

Keywords: Altitude, Essential oil, Habitat, Horsemint, Pulegone.



تأثیر کاربرد اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر گلدهی و عمر پس از برداشت گل ژربرا (*Gerbera jamesonii*) رقم دانی

سهیلا حاجی زاده^۱ - زهره جبارزاده^{۲*} - میر حسن رسولی صدقیانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵

چکیده

به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر گلدهی و همچنین عمر پس از برداشت گل ژربرا رقم دانی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۹۶-۹۷ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل اسیدفولویک در ۴ سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر به صورت کاربرد خاکی و نانوکلات آهن در ۴ سطح صفر، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به صورت محلول پاشی بود. آزمایش در شرایط گلخانه در گلدان و در محیط کشت هیدروپونیک اجرا شد. در این پژوهش شاخص‌های تعداد روز تا ظهور غنچه گل، طول ساقه گل‌دهنده، ماندگاری گل روی بوته، عمر گلجای، وزن تر و خشک گل و همچنین محتوای کلروفیل و کاروتنوئید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش غلظت نانوکلات آهن بیشترین وزن خشک گل بدست آمد ولی وزن تر گل تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. تیمار اسید فولویک ۵۰ میلی گرم در لیتر بدون کاربرد نانوکلات آهن سبب زود گلدهی شد. محتوای کلروفیل (کلروفیل a و b و کلروفیل کل) و مقدار کاروتنوئید ژربرا با افزایش غلظت‌های اسیدفولویک و نانوکلات آهن در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بیشترین ماندگاری گل روی بوته در غلظت ۲۵۰ میلی گرم در لیتر اسیدفولویک به همراه ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن به دست آمد و در غلظت ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن تمامی غلظت‌های اسیدفولویک باعث افزایش معنی دار عمر گلجای نسبت به تیمار شاهد شدند. بطور کلی نتایج حاصل، بیانگر تأثیر مثبت این تیمارها بر بیشتر صفات اندازه‌گیری شده می‌باشد.

واژه های کلیدی: کاروتنوئید، کلروفیل، ماندگاری گل، وزن خشک گل

مقدمه

ترکیبات هوموسی مواد آلی، دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های اسیدهیومیک و اسیدفولویک و جزء هومین است (۹). ترکیبات هیومیکی نتیجه تجزیه مواد آلی خاک، پیت، لیگنین و غیره هستند که دارای فعالیت‌های اکسین‌مانند و سایتوکینین‌مانند هستند. ظاهراً این مواد با وزن مولکولی کم با قرار گرفتن در غشاء سلولی، نه تنها جذب یک سری از عناصر را بهبود می‌بخشند، بلکه به حفظ پایداری غشاء نیز کمک می‌کنند (۶). مواد هیومیکی کیفیت تولید گیاهان زینتی را افزایش داده و باعث کاهش مصرف کود می‌شوند (۱۲). اسیدفولویک یکی از این ترکیبات هیومیکی می‌باشد که اثرات سودمند بسیاری در افزایش مقاومت به خشکی، بهبود جذب مواد مغذی، ثبات pH و کاهش آبشویی کود دارد (۳۷). اسیدهای فولویک مجموعه‌ای از زنجیره‌های آلیفاتیک ضعیف و اسیدهای ارگانیک آروماتیک می‌باشند که در کلیه pHهای اسیدی، بازی و خنثی، در آب قابل حل می‌باشند. شکل و ترکیب این مولکول، کاملاً تغییرپذیر است (۲۸). اسیدفولویک یک تامپون طبیعی و کلات‌کننده مناسب با قدرت تبادل یونی زیاد است که قدرت جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد و در نتیجه آن، مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد و نیز

گل ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii* گیاهی متعلق به تیره کاسنی (Compositae) می‌باشد. تیره کاسنی یکی از مهم‌ترین تیره‌های گیاهی محسوب می‌شود که تعداد زیادی از گونه‌های مهم زینتی نظیر ابری، همیشه‌بهار، داوودی، جعفری، آهار و کوبک در آن جای دارند. ارزش ژربرا به دلیل گلبرگ‌های پرتوآسای زیبا در حاشیه بوده و گل‌های آن دارای دامنه متنوعی از رنگ‌ها شامل زرد، نارنجی، صورتی، قرمز، بنفش و سفید می‌باشد. این گیاه بومی جنوب کشورهای آفریقا، ماداگاسکار، آسیا و اندونزی می‌باشد (۱۱). ژربرا در حال حاضر جزء ۱۰ گل بریدنی مهم دنیا و ایران محسوب می‌شود (۱۵).

۱ و ۲ - دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان زینتی و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(*) - نویسنده مسئول: (Email: z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir)

۳ - استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

باعث افزایش کیفیت و کمیت محصول می‌گردد (۱۷).

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال‌های ۹۷-۹۶ در گلخانه‌های آموزشی، پژوهشی و تولیدی دانشگاه ارومیه انجام شد. در این آزمایش از رقم Dune ژبررا استفاده شد. پس از انتخاب رقم مورد نظر، نشاهای کشت بافتی ژبررای ۴-۶ برگه تهیه شده از تهران، در گلدان‌های پلاستیکی سایز ۲۰ کشت شدند. دمای روز گلخانه ۲۵-۲۰ و دمای شب ۱۶-۱۳ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۵۰۰-۴۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه بود. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۱۶ تیمار به‌صورت گلدانی در گلخانه اجرا شد. هر واحد آزمایشی شامل یک گلدان و هر گلدان حاوی یک گیاه بوده و مجموعاً ۴۸ واحد آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت مورد استفاده غیر خاکی و مخلوطی از کوکوپیت (۵ درصد) و پرلایت (۳۰ درصد) و پیت ماس (۶۵ درصد) بود. طی دوره‌های رشد و گلدهی، محلول غذایی اعمال شد. تغذیه گیاه ژبررا سه بار در هفته و براساس ترکیب محلول غذایی که در جدول ۱ آورده شده است، صورت گرفت. لازم به ذکر است که عناصر میکرو نیز با غلظت مشخص به محلول غذایی اضافه می‌شدند.

فناوری نانو به‌عنوان یک فناوری بین رشته‌ای و پیش‌تاز با رفع مشکلات و کمبودها در بسیاری از عرصه‌های علمی و صنعتی به خوبی جایگاه خود را در علوم کشاورزی و صنایع وابسته آن به اثبات رسانده است. فناوری نانو کاربردهای وسیعی در همه مراحل تولید، فراوری، نگهداری، بسته‌بندی و انتقال تولیدات کشاورزی دارد (۳۳). نانوذرات واکنش‌پذیری زیادی دارند چون سطح تماس آن‌ها بیشتر است، در واقع چگالی بیشتر یا ناحیه فعال بیشتری دارند (۲۹). با کودهای نانو، ترکیبات به سرعت جذب گیاهان می‌شوند و مواد مغذی و ضروری برای گیاه تأمین می‌شود. بنابراین با استفاده از مواد نانو، رشد گیاه افزایش پیدا می‌کند (۳). نانوکلات آهن بسیار با دوام بوده و آهن خود را به تدریج در دامنه وسیعی از pH (۳ تا ۱۲) آزاد می‌سازد. ویژگی استفاده از این فرم از کود آهن (نانوکلات) این است که در ساخت آن از اتیلن استفاده نشده است، زیرا اتیلن ترکیبی است که باعث زودرسی گیاه و ریزش برگ‌ها می‌شود (۲۵). با توجه به اثرات مفید اسیدفولویک و نانوکلات آهن، و با توجه به اینکه ژبررا یکی از گیاهان محبوب شاخه بریدنی است که افزایش کیفیت و عمر پس از برداشت آن می‌تواند بازارپسندی این گل را افزایش دهد، هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر این دو ماده بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گل ژبررا می‌باشد.

جدول ۱- برنامه غذایی مورد استفاده برای ژبررا برای ۱۰۰۰ لیتر

Table 1- Nutrition program used for gerbera for 1000 L

5Ca (NO ₃) ₂ -NH ₄ NO ₃ . 10H ₂ O	Fe chelate 6%	K ₂ SO ₄	MAP	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	Mg(NO ₃) ₂
75 g	20 g	87 g	115 g	100 g	493 g	210 g

کشت) و تعداد روز تا ظهور غنچه گل اندازه‌گیری شد. ماندگاری گل روی بوته: برای بررسی دوام یا عمر گل روی بوته، تعداد روز از ظهور گل تا زمانی که گل‌ها حالت شادابی و تورژسانس خود را از دست نداده‌اند، ثبت شد. عمر گلجایی: به منظور تعیین عمر گلجایی ژبررا، گل‌ها قبل از به گرده نشستن پیده شدند، سپس در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و شرایط محیطی دمای ۲۰±۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۴/۱۰ ساعت (۱۴ ساعت روشنائی و ۱۰ ساعت تاریکی) قرار داده شدند. هر دو روز یکبار بازبرش گل‌ها صورت می‌گرفت. زمان پایان عمر گل، وقتی که ۳۰ درصد گل‌های زبانه‌ای پژمرده شدند تعیین شد (۱۶).

شاخص کلروفیل: در کلیه تیمارها و از هر گلدان میزان کلروفیل سه برگ (از پهنک برگ‌های توسعه یافته‌ی قسمت‌های بالا، وسط و پایین گیاه) با دستگاه سنجش شاخص کلروفیل (SPAD) (MINOLTA 502, Osaka Japan) اندازه‌گیری گردید و سپس از آن‌ها میانگین گرفته شد.

پس از استقرار کامل گیاهان (حدوداً دو ماه پس از کاشت گیاهان)، تیمارهای مورد مطالعه شامل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت کاربرد خاکی و نانوکلات آهن در غلظت‌های ۰، ۱، ۲ و ۴ گرم در لیتر به‌صورت محلول پاشی هر ۱۵ روز یکبار و به مدت ۴ ماه اعمال شد. در این آزمایش از اسیدفولویک مرک چین و نانوکلات آهن خضرا استفاده شد. دو هفته پس از پایان اعمال تیمارها، نمونه برداری از گل‌ها و برگ‌ها به منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی انجام گرفت.

وزن تر و خشک گل: برای مقایسه وزن تر گیاهان تیمار شده با گیاهان شاهد، گل‌ها پس از برداشت تصادفی بلافاصله توسط ترازوی دیجیتالی (METTLER, PJ300) و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شدند. برای تعیین وزن خشک ابتدا نمونه‌ها پس از قرارگیری در پاکت کاغذی، در آون با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند و پس از خارج نمودن نمونه‌ها از آون، مجدداً به کمک ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شدند. همچنین طول ساقه گل‌دهنده (با خط

A645: جذب نوری در طول موج ۶۴۵
 A663: جذب نوری در طول موج ۶۶۳
 A470: جذب نوری در طول موج ۴۷۰

تجزیه آماری داده‌ها و نرم افزارهای مورد استفاده: برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت. همچنین، برای رسم نمودار از نرم‌افزار (2016) Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعداد روز تا ظهور غنچه‌ی گل: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۱ درصد و اثر اصلی نانوکلات آهن و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال ۵ درصد در تعداد روز تا ظهور غنچه گل آن تأثیر معنی‌دار داشتند.

محتوای کلروفیل و کارتنوئید: این اندازه‌گیری به روش لیچنتن‌الر انجام گرفت. بدین منظور، ۰/۱ گرم از بافت برگ (برگ‌های کاملاً توسعه یافته) با قیچی خرد شده و در یک هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد سائیده تا به‌صورت توده یکنواختی درآید (عمل سائیدن و له کردن بافت برگ در محیط خنک و در نور کم انجام گرفت). ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط به‌دست آمده برداشته شده و با ۱/۵ میلی‌لیتر آب مخلوط شده و در دستگاه سانتیفریوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از سانتیفریوژ کردن، میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر، ۶۴۵ نانومتر و ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و کارتنوئید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه بدست آمد (۲۱).

$$\begin{aligned} \text{Chla} &= (11.75 \times \text{A663} - 2.350 \times \text{A645}) \\ \text{Chlb} &= (18.61 \times \text{A645} - 3.960 \times \text{A663}) \\ \text{Chl total} &= \text{Chla} + \text{Chlb} \\ \text{Car} &= \frac{1000 \times \text{A470} - 2.27 \times \text{Chla} - 81.4 \times \text{Chlb}}{227} \end{aligned}$$

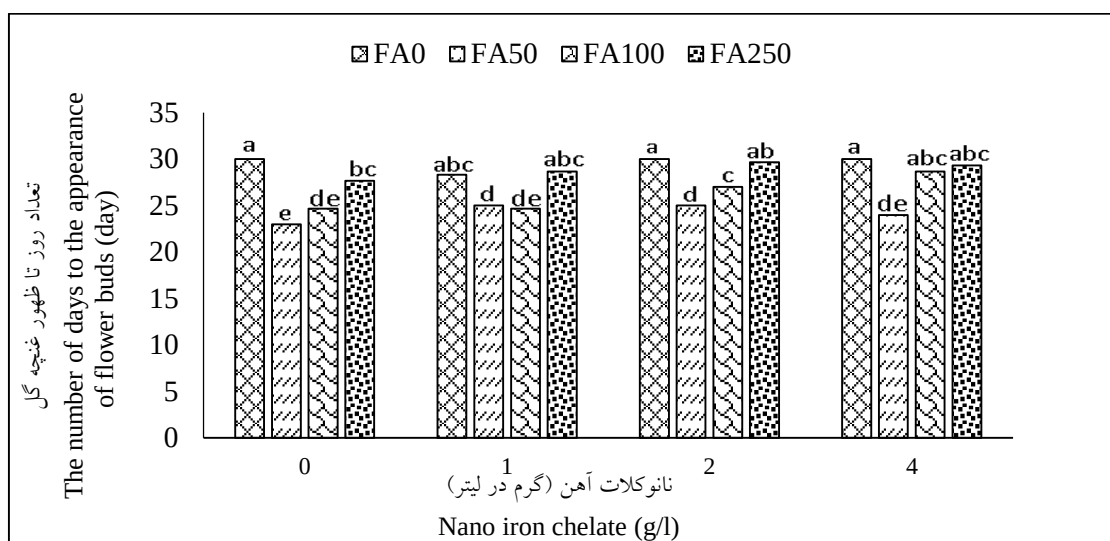
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای اسید فولویک و نانو کلات آهن بر شاخص‌های مربوط به گلدهی ژربرا رقم دانی
 Table 1- ANOVA for the effects of fulvic acid and iron nano chelate treatments on flowering indexes of gerbera cv. Dune

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Squares					
		تعداد روز تا ظهور غنچه گل The number of days to the appearance of flower buds	طول ساقه گل‌دهنده Flower stem length	ماندگاری گل روی بوته Flower longevity	عمر گلجای Vase life	وزن تر گل Flower fresh weight	وزن خشک گل Flower dry weight
اسیدفولویک Fulvic acid	3	22.138**	32.326 ^{ns}	23.187**	3.187 ^{ns}	4.478 ^{ns}	1.210*
نانوکلات آهن Nano iron chelate	3	6.694*	127.097**	0.354 ^{ns}	17.187**	59.401 ^{ns}	1.831**
اسیدفولویک × نانوکلات آهن Fulvic acid × Nano iron chelate	9	3.712*	42.685 ^{ns}	10.020*	11.298**	43.742 ^{ns}	0.734 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	32	1.562	21.062	3.645	1.687	29.166	0.359
ضریب تغییرات (درصد) CV(%)		8.49	6.56	6.72	11.742	12.71	10.17

***معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد *:معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ns: عدم معنی‌داری
 **Significant at 1% level of probability, * Significant at 5% level of probability, ns: Non-significant

مربوط به تیمار شاهد و غلظت ۲ و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدون کاربرد اسیدفولویک و کمترین تعداد روز تا ظهور غنچه‌گل (۲۳ روز) مربوط به تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک بدون کاربرد نانوکلات آهن بود.

نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) نشان داد که در کاربرد توأم دو ماده، غلظت کم اسیدفولویک (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در تمامی سطوح نانوکلات آهن سبب زود باز شدن گل‌ها می‌شود ولی کاربرد غلظت‌های زیاد هر دو ماده مجدداً باعث دیر باز شدن گل‌ها می‌شود. لازم به‌ذکر است که بیشترین تعداد روز تا ظهور غنچه گل (۳۰ روز)



شکل ۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر تعداد روز تا ظهور غنچه گل ژربرا رقم دانی.
Figure 1- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on the number of days to the appearance of flower buds of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)

شاهد مشاهده شد.

به‌طور کلی افزایش طول ساقه به‌واسطه کود آهن مربوط به تأثیر این عنصر در فتوسنتز است که سبب افزایش ساختار کلروفیل در برگ‌ها می‌شود و در نتیجه فتوسنتز افزایش می‌یابد و مواد فتوسنتزی بیشتر به نقاط مختلف گیاه از جمله ساقه‌ها وارد می‌شود و در نهایت طول ساقه افزایش می‌یابد (۳۱). در صورت کمبود آهن، برگ‌ها قادر به تولید ترکیبات فتوسنتزی مورد نیاز برای رشد و نمو نیستند که این امر موجب کاهش رشد می‌شود (۲۶). محلول‌پاشی آهن باعث افزایش جذب آهن در برگ‌های گیاه می‌شود که در نتیجه این افزایش، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز افزایش می‌یابد که در نهایت باعث افزایش آسیمیلاسیون در برگ‌های گیاه می‌شود (۱۹)، احتمالاً این عوامل سبب افزایش طول ساقه گل‌دهنده با کاربرد نانوکلات آهن شده باشند. در پژوهش بخرد و همکاران (۷) نیز گزارش شد که کاربرد کود نانو سبب افزایش ارتفاع بوته شده است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد.

ماندگاری گل روی بوته: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی نانوکلات آهن بر ماندگاری گل روی بوته تأثیر معنی‌داری نداشت اما اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی‌داری داشت.

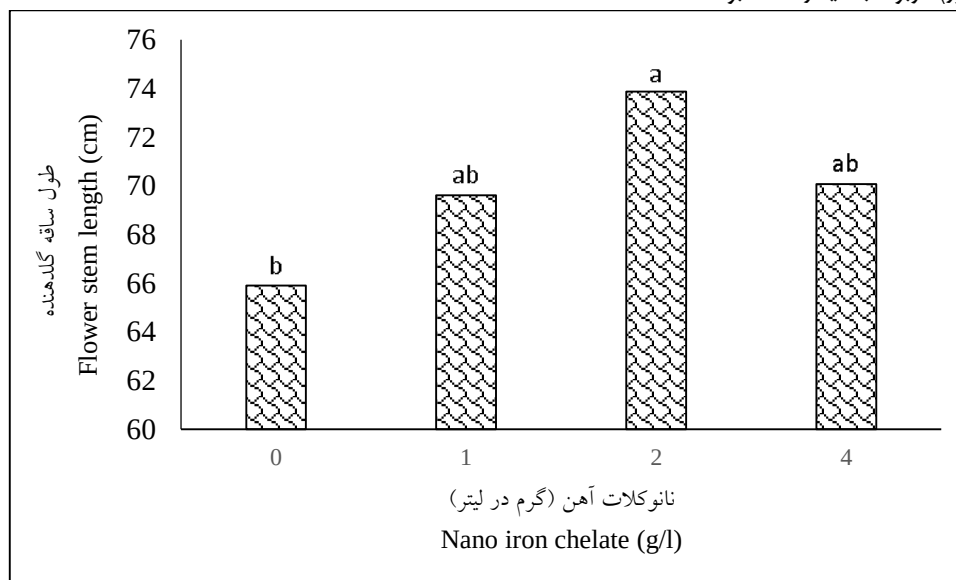
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۳) نشان می‌دهد که با کاربرد نانوکلات آهن همراه با غلظت زیاد اسیدفولویک، ماندگاری گل روی بوته افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین ماندگاری گل روی بوته (۱۹ روز) مربوط به تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر

مواد هیومیک با مکانیسم‌های مختلف سبب تسریع رشد در گیاهان می‌شوند. یکی از این مکانیسم‌ها به اثر مستقیم این ترکیبات وجود ترکیبات شبه هورمونی، از جمله ترکیبات اکسینی و شبه اکسینی، مربوط می‌باشد که می‌توانند رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (۴). کاهش زمان تا گلدهی در اثر کاربرد اسیدفولویک احتمالاً به‌دلیل افزایش توسعه ریشه و جذب سریع عناصر غذایی می‌باشد که این امر موجب تسریع رشد و ظاهر شدن سریع گل‌ها و گذر از مرحله نونهالی به دوره بلوغ می‌باشد (۳۵)، که با نتایج پژوهش یزدانی (۳۹) مطابقت دارد. از طرفی افزایش میزان نیتروژن موجب تأخیر در زمان گلدهی می‌شود، از آن‌جایی که اسیدفولویک و نانوکلات آهن هر دو در افزایش مقدار نیتروژن نقش دارند و باعث افزایش رشد رویشی به‌ویژه تعداد برگ می‌شوند، می‌توان گفت که به این دلیل غلظت‌های زیاد این مواد سبب تأخیر در گلدهی شده‌اند.

طول ساقه گل‌دهنده: تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و اثرات متقابل اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر طول ساقه گل‌دهنده معنی‌دار نبوده، اما کاربرد نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد بر طول ساقه گل‌دهنده اثر معنی‌داری نشان داد.

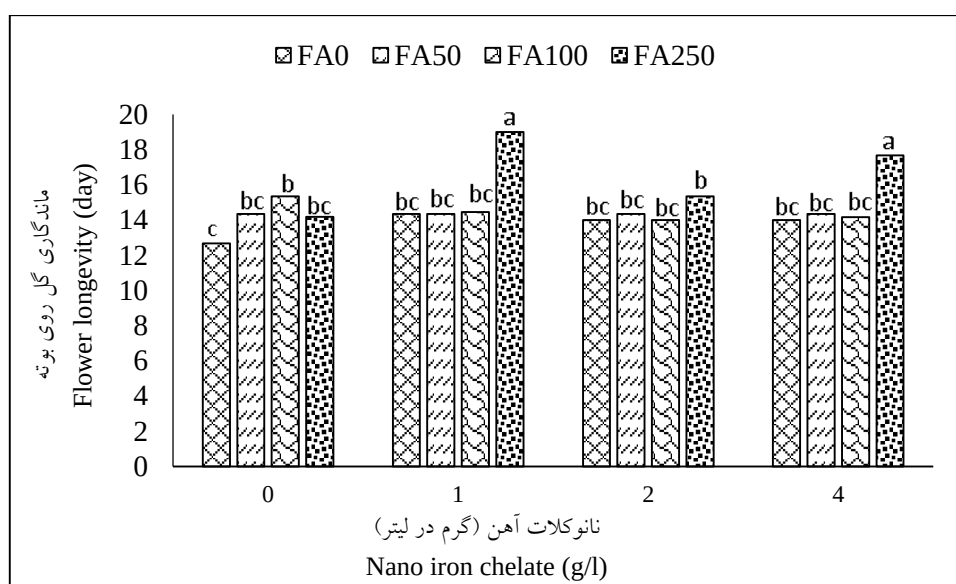
نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲) نشان داد که تمامی غلظت‌های نانوکلات آهن باعث افزایش طول ساقه گل‌دهنده نسبت به شاهد شدند، هرچند که این افزایش فقط در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن معنی‌دار بود. لازم به ذکر است که بیشترین طول ساقه گل‌دهنده (۷۳/۸۷ سانتی‌متر) در غلظت ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین مقدار طول ساقه گل‌دهنده (۶۵/۹۱ سانتی‌متر) در تیمار

اسیدفولویک و ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین ماندگاری گل روی بوته (۱۲/۶۶ روز) مربوط به تیمار شاهد بود.



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های نانوکلات آهن بر طول ساقه گل‌دهنده گل ژربرا رقم دانی

Figure 2- Effect of different concentrations of iron nano chelate on the flower stem length of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.01$)



شکل ۳- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر ماندگاری گل روی بوته گل ژربرا رقم دانی.

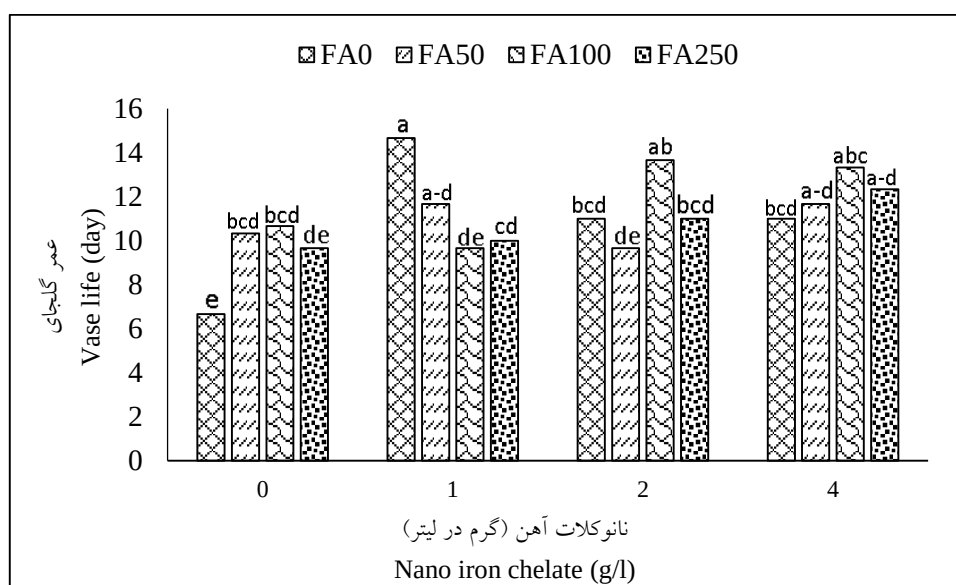
Figure 3- Interaction effects of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on flower longevity of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)

تیمار اسیدفولویک احتمالاً باعث کاهش درصد نشت یونی و در نتیجه افزایش دوام و عمر گل شده است. همچنین از آنجا که اسیدفولویک ذخیره‌سازی رطوبت را افزایش می‌دهد (۲۸) می‌توان احتمال داد که با بهبود جذب تجمعی آب توسط ساقه گل‌دهنده سبب بهبود دوام عمر گل می‌شود. آهن با تأثیر بر میزان کلروفیل برگ‌ها و افزایش

طول عمر گل صفتی است که علاوه بر شرایط محیطی نظیر دمای هوا، آبیاری و شدت نور می‌تواند تحت تأثیر عوامل درونی گیاه نیز قرار بگیرد. رابطه نزدیکی بین نشت یونی و دوام عمر گل وجود دارد (۳۲)، کاربرد مواد هیومیکی به دلیل بهبود ساختار غشاء سیتوپلاسم و حفظ آنتوسیانین، کاهش نشت یونی را در پی دارند (۱۰)

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۴) نشان داد که اغلب تیمارها باعث افزایش معنی‌دار عمر گلجای نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان عمر گلجای (۱۴/۶۶ روز) مربوط به تیمار نانوکلات آهن ۱ گرم در لیتر بدون کاربرد اسیدفولویک بود. کمترین مقدار عمر گلجای (۶/۶۶ روز) نیز مربوط به تیمار شاهد بود. با توجه به شکل ۴، کاربرد توأم اسیدفولویک و نانوکلات آهن روند مشخصی در افزایش عمر گلجای نداشت ولی در تیمار نانوکلات آهن ۴ گرم در لیتر، کاربرد اسیدفولویک در هر غلظتی توانست عمر گلجای را نسبت به شاهد افزایش دهد.

سنتر ایندول استیک اسید باعث تأخیر در پیری گیاه و در نتیجه طولانی شدن دوره فتوسنتز می‌شود که این امر باعث بهبود تولید کربوهیدرات‌ها و انتقال آن‌ها به بخش‌های هوایی می‌شود (۱۸). در این پژوهش نیز، در مورد اثر نانوکلات آهن روی ماندگاری گل ژربرا روی بوته می‌توان گفت که احتمالاً نانوکلات آهن با افزایش میزان کلروفیل و کربوهیدرات‌ها ماندگاری گل را افزایش می‌دهد. عمر گلجای: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک تأثیر معنی‌داری روی عمر گلجای نداشت اما اثر اصلی نانوکلات آهن و همچنین اثر متقابل این عوامل در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر روی این صفت داشت.



شکل ۴- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر عمر گلجای گل ژربرا رقم دانی.

Figure 4- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on vase life of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.01$)

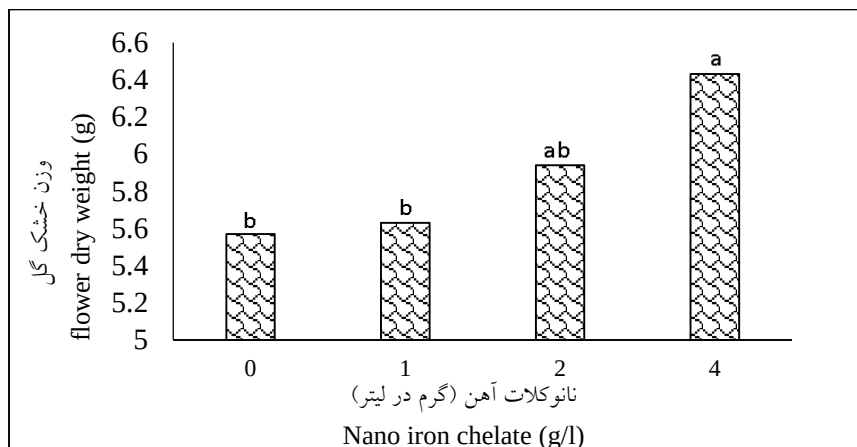
بریده می‌شود. می‌توان علت افزایش عمر گلجای توسط کاربرد نانوکلات آهن در این پژوهش را کاهش از دست دهی آب، کوچک شدن منفذ روزنه و در نتیجه کاهش تعرق در اثر اعمال نانوکلات آهن و همچنین ساختار هیدروکربنی بدون اتیلن نانوکلات آهن ربط داد (۲۲، ۲۳). نتایج این پژوهش با نتایج بیگی و چمنی (۵) درخصوص تأثیر موادیومیکی و نانوکلات آهن روی گل رز مطابقت دارد. وزن خشک گل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر متقابل تیمارها بر وزن خشک گل تأثیر معنی‌داری نداشت، اما اثر اصلی نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد و اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۵ درصد بر وزن خشک گل معنی‌دار شد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۵) نشان داد که تمامی غلظت‌های نانوکلات آهن باعث افزایش وزن خشک گل نسبت به

مواد هوموسی می‌توانند نقش مهمی در کیفیت گل‌های شاخه بریده ایفا نمایند. این مواد با افزایش رشد ریشه، بهبود غلظت عناصر غذایی در بافت‌های گیاه و شاید با خواص شبه هورمونی می‌توانند باعث حفظ کیفیت گل‌ها پس از برداشت شوند. اسیدفولویک با افزایش جذب عناصر غذایی، کلات کردن عناصر و فعالیت شبه هورمونی، می‌تواند کیفیت و کمیت گل ژربرا شاخه بریده را بهبود بخشد (۳۹). خاصیت شبه سایتوکینینی مواد هیومیک باعث افزایش عمر پس از برداشت گل‌های بریدنی می‌شود. این مواد باعث تنظیم باز و بسته شدن روزنه‌ها شده و کاهش تعرق را به همراه دارند (۲۷). کمبود برخی عناصر از جمله نیتروژن، آهن، منیزیم و منگنز باعث کاهش در میزان کلروفیل و کاهش فتوسنتز می‌شود که در نهایت منجر به کاهش کربوهیدرات گل می‌گردد که کاهش کربوهیدرات‌ها باعث کاهش کیفیت و کاهش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه

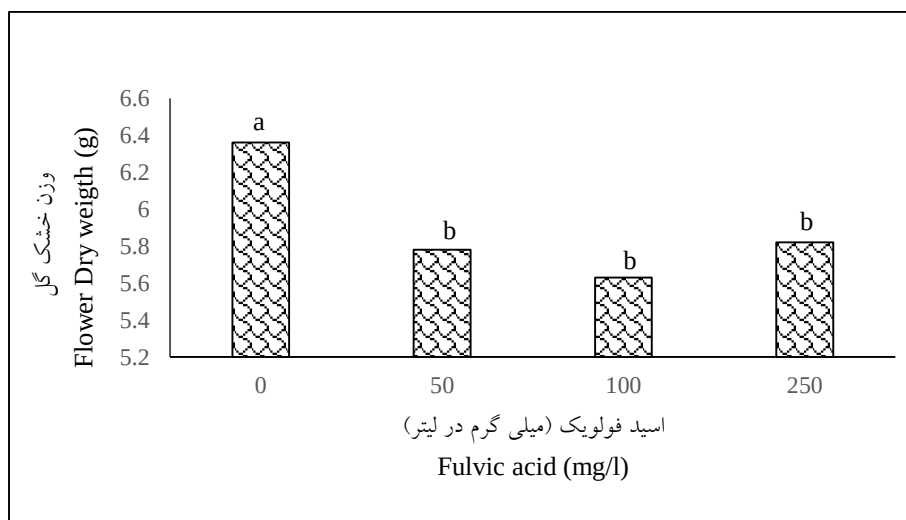
مقایسه میانگین های مربوط به اسید فولویک نشان داد که کاربرد اسید فولویک باعث کاهش معنی دار وزن خشک گل نسبت به شاهد شد هر چند که بین غلظت های مختلف اسید فولویک اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۶).

شاهد شدند هرچند که این افزایش فقط در غلظت ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن معنی دار بود. لازم به ذکر است که بیشترین مقدار وزن خشک گل (۶/۴۳ گرم) مربوط به تیمار ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن و کمترین مقدار آن (۵/۵۷ گرم) مربوط به تیمار شاهد بود. نتایج



شکل ۵- تأثیر غلظت های مختلف نانوکلات آهن بر وزن خشک گل ژربرا رقم دانی.

Figure 5- Effect of different concentrations of iron nano chelate on flower dry weight of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.01$)



شکل ۶- تأثیر غلظت های مختلف اسید فولویک بر وزن خشک گل ژربرا رقم دانی.

Figure 5- Effect of different concentrations of fulvic acid on flower dry weight of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)

فولویک را می توان چنین توجیه کرد که اسید فولویک باعث کاهش مدت زمان ظهور غنچه تا باز شدن آن می شود، به عبارتی باعث زودرسی گل می شود که این زودرسی با کاهش زیست توده گل همراه خواهد بود. همانطور که قبلاً نیز اشاره شد، کاهش زمان تا گلدهی در اثر کاربرد اسیدفولویک احتمالاً به دلیل افزایش توسعه ریشه و جذب سریع عناصر غذایی می باشد که این امر موجب تسریع رشد و ظاهر شدن سریع گل ها می شود (۳۵) و در نتیجه گل ها فرصت کافی برای بهره مندی از مواد ذخیره فتوسنتزی و به تبع آن، افزایش وزن ندارند.

در بین عناصر ریزمغذی، آهن نقش کلیدی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان برخوردار می باشد. بنابراین کاربرد آن اثر مثبت بر تولید ماده خشک گیاه خواهد داشت (۸). دلیل بیشتر بودن وزن خشک گل را می توان چنین بیان کرد که در برگ های گیاهان تیمار شده با کود نانوکلات آهن، مقدار کلروفیل افزایش می یابد که به سنتز مواد فتوسنتزی و تولید مواد کربوهیدراتی منجر می شود، که در نهایت سبب افزایش وزن خشک گل می شود. دلیل کاهش وزن خشک گل در اثر کاربرد اسید

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر شاخص‌های فیزیولوژیکی ژبر بر رقم دانی

Table 2- ANOVA for the effects of fulvic acid and iron nano chelate treatments on physiological indexes of gerbera cv. Dune

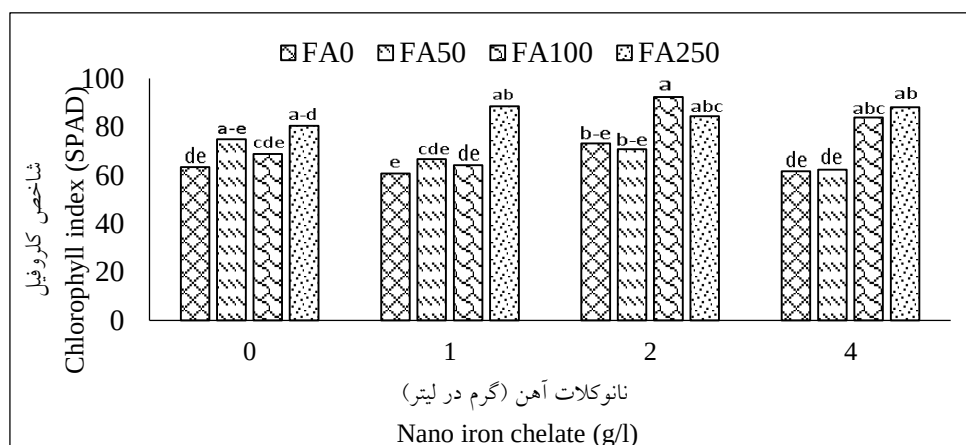
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Squares				کارتنوئید Carotenoid
		شاخص کلروفیل Chlorophyll index	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	
اسیدفولویک Fulvic acid	3	639.032**	0.025**	0.0066**	0.058**	0.004**
نانوکلات آهن Nano iron chelate	3	62.718 ^{ns}	0.020**	0.0005 ^{ns}	0.023**	0.004**
اسیدفولویک × نانوکلات آهن Fulvic acid × Nano iron chelate	9	337.657**	0.005*	0.0007*	0.0079*	0.0004**
اشتباه آزمایشی Error	32	55.312	0.0019	0.0002	0.002	0.0001
ضریب تغییرات (CV(%))		1.028	12.81	10.95	10.42	8

***: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد **: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ns: عدم معنی‌داری

**Significant at 1% level of probability, * Significant at 5% level of probability, ns: Non-significant

شد. بیشترین مقدار شاخص کلروفیل (۹۲/۲۹) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسیدفولویک و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد و اکثر تیمارها داشت ولی این اختلاف با تیمار بیشترین غلظت اسیدفولویک در تمامی سطوح نانوکلات آهن معنی‌دار نبود، کمترین مقدار شاخص کلروفیل (۶۰/۶۶) در غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدون کاربرد اسیدفولویک به دست آمد.

شاخص کلروفیل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و همچنین اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال ۱ درصد بر شاخص کلروفیل معنی‌دار بود، اما اثر اصلی نانوکلات آهن بر این شاخص معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۷) نشان داد که افزایش غلظت اسیدفولویک و نانوکلات آهن باعث افزایش شاخص کلروفیل



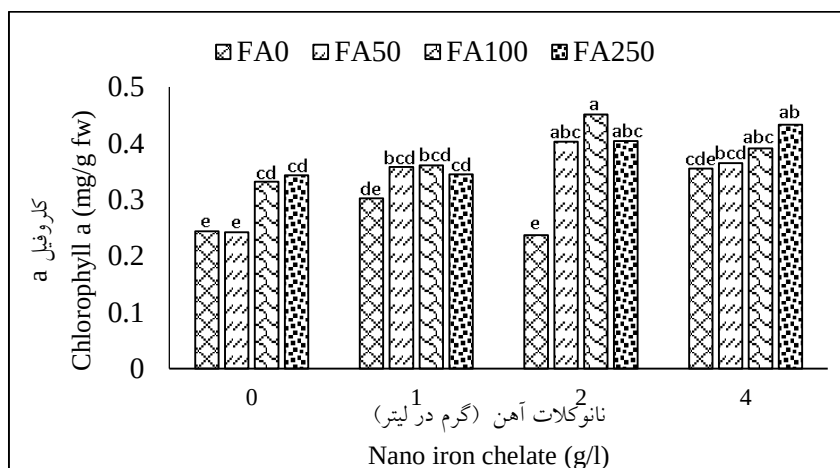
شکل ۷- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر شاخص کلروفیل کل ژبر بر رقم دانی.

Figure 7- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on chlorophyll index of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.01$)

محتوای کلروفیل

کلروفیل a: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دو عامل در سطح ۵ درصد بر میانگین کلروفیل a معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۸) نشان داد که در تمامی غلظت‌های نانوکلات آهن، با افزایش غلظت اسیدفولویک مقدار کلروفیل a نیز روند صعودی داشت هرچند که در غلظت‌های ۱ و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن با افزایش غلظت اسیدفولویک به ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر مقدار کلروفیل a کمی کاهش یافت اما این کاهش معنی‌دار نبود. در میان غلظت‌های اسیدفولویک و نانوکلات آهن



شکل ۸- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر کلروفیل a ژربرا رقم دانی.

Figure 8- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on chlorophyll a of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)

معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار کلروفیل b (۰/۰۹۳) میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدون کاربرد اسیدفولویک بود.

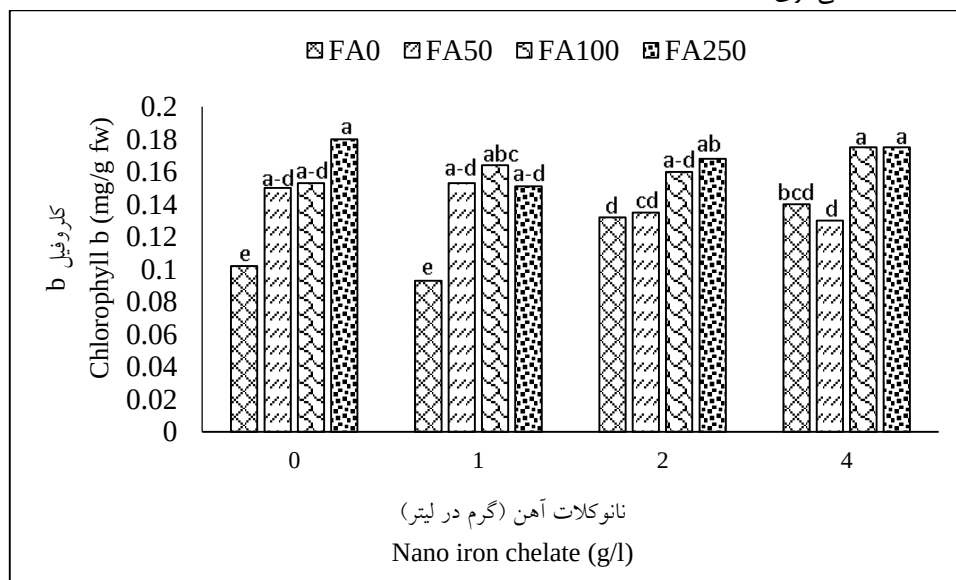
کلروفیل کل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و نانوکلات آهن در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال ۵ درصد بر کلروفیل کل معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۰) نشان داد که کاربرد توأم اسیدفولویک و نانوکلات آهن در اکثر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل کل نسبت به شاهد شد. لازم به ذکر است که بیشترین مقدار کلروفیل کل (۰/۶۱۵) میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در غلظت ۱ گرم بر لیتر نانوکلات آهن و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدفولویک بود و کمترین مقدار کلروفیل کل (۰/۳۳۰) میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در

کلروفیل b: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال ۵ درصد بر کلروفیل b معنی‌دار بود اما اثر اصلی نانوکلات آهن بر کلروفیل b معنی‌دار نبود.

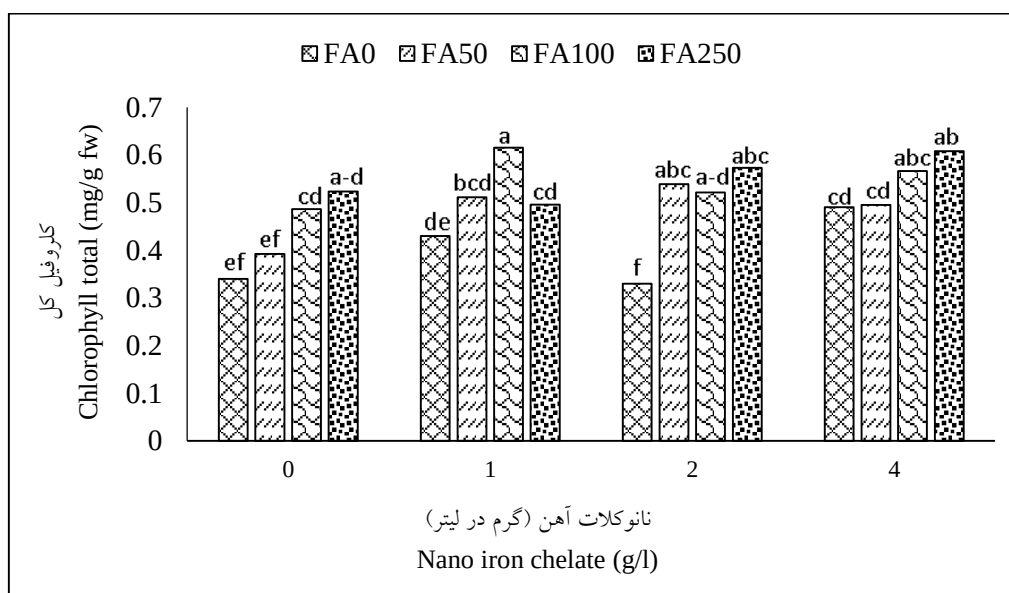
نتایج مقایسه میانگین اثر داده‌ها (شکل ۹) نشان داد که با افزایش غلظت اسیدفولویک در تمامی غلظت‌های نانوکلات آهن، مقدار کلروفیل b نیز افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد داشت. بیشترین مقدار کلروفیل b (۰/۱۸۰) میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک بدون کاربرد نانوکلات آهن بود هر چند که با سایر غلظت‌های به کار رفته اسیدفولویک در همان سطح نانوکلات آهن و تمامی تیمارهای با کاربرد اسیدفولویک در غلظت ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن و غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک در غلظت‌های ۲ و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن اختلاف

غلظت ۲ گرم بر لیتر نانوکلات آهن بدون کاربرد اسیدفولویک به دست آمد هرچند که با شاهد اختلاف معنی داری نداشت.



شکل ۹- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر کلروفیل b ژربرا رقم دانی.

Figure 9- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on chlorophyll b of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۱۰- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر کلروفیل کل ژربرا رقم دانی

Figure 10- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on chlorophyll total of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.05$)

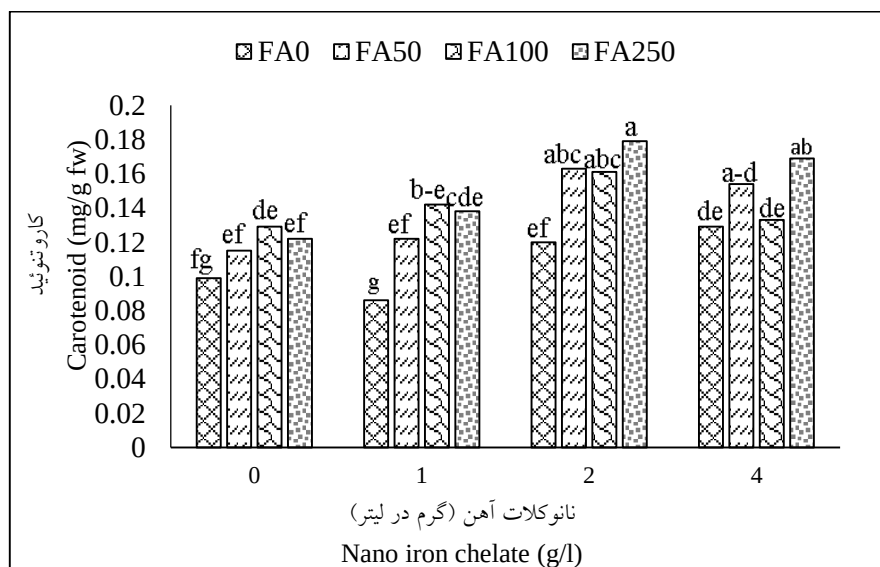
تأثیر می‌گذارد. اسیدفولویک موجب افزایش ظرفیت تولید از طریق افزایش سنتز کلروفیل نیز می‌گردد (۲۸). همچنین به نظر می‌رسد که اسیدفولویک از طریق قدرت کلات‌کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر و تعرق و در نتیجه قراردادن آب و مواد غذایی بیشتر و

مواد هیومیکی در فرایندهای بیولوژیک مانند فتوسنتز و کلروفیل کل موثرند (۳۴). در پژوهش یانگ و همکاران (۳۸) که تأثیر مواد هیومیکی بر فعالیت کلروفیل‌ها بررسی شده بود مشخص شد که، اسیدفولویک بیشتر از اسیدهیومیک و هیومین بر فعالیت کلروفیل a

دارد (۲۴).

کاروتنوئید: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثر اصلی اسیدفولویک و نانوکلات آهن و همچنین اثر متقابل دو تیمار در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان کاروتنوئید معنی‌دار بودند. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۱۱) نشان داد که کاربرد اسیدفولویک و نانوکلات آهن باعث افزایش معنی‌دار میزان کاروتنوئید نسبت به شاهد شد. بیشترین مقدار کاروتنوئید (۰/۱۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدفولویک به همراه ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن مشاهده شد و کمترین مقدار (۰/۰۸۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار ۱ گرم در لیتر نانوکلات آهن بدون اسیدفولویک به‌دست آمد هرچند که با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت.

مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند ساخت رنگیزه‌های کلروفیل را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی در گیاه را راحت‌تر کند. نتایج پژوهش حاضر، همچنین با نتایج پژوهش ناردی و همکاران (۳۰) مطابقت دارد که بیان کردند استفاده از اسیدهیومیک و اسیدفولویک بصورت کاربرد در محلول غذایی و یا به‌صورت محلول‌پاشی، می‌تواند موجب افزایش فتوسنتز و تنفس شود. در بین عناصر ریزمغذی، آهن نقش کلیدی در تشکیل کلروفیل و فتوسنتز داشته و از اهمیت زیادی در سیستم آنزیمی و تنفس گیاهان برخوردار می‌باشد (۸). محتوای - کلروفیل یکی از مهم‌ترین عواملی است که ظرفیت فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. احتمالاً علت افزایش مقدار کلروفیل به‌دلیل تأثیر نانوکلات آهن بر ساخت پیش‌سازهای سنتز کلروفیل باشد. زیرا آهن جزء متابولیک آنزیم کاپروپورفینوژن اکسیداز است و این آنزیم در بیوسنتز آلفا-آمینو لینوئلیک ALA که پیش‌ساز کلروفیل است تأثیر



شکل ۱۱- اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسیدفولویک × نانوکلات آهن بر کاروتنوئید ژربرا رقم دانی.

Figure 11- Interaction effect of different concentrations of fulvic acid × iron nano chelate on carotenoid of gerbera cv. Dune (DMRT, $p \leq 0.01$)

تیلاکوئید اس (۲، ۱۴). نتایج تحقیقات گذشته (۱۳) نشان می‌دهد، هورمون اسید جیبرلیک در افزایش محتوای کاروتنوئید روی گیاه کروتون مؤثر بوده است. با توجه به نقش هورمونی اسید فولویک می‌توان احتمال داد که خاصیت جیبرلینی این تیمار سبب افزایش محتوای کاروتنوئید شده است. از طرفی می‌توان احتمال داد که اسیدفولویک با افزایش فعالیت آنزیم رویسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود و به‌دنبال آن رنگدانه کاروتنوئید افزایش یافته است. از آنجایی که آهن سبب حفظ ساختمان کلروپلاست می‌گردد، وجود آهن باعث افزایش ساخت کاروتنوئید در گیاهان می‌شود (۱). احتمالاً در این پژوهش به این دلایل افزایش غلظت نانوکلات آهن،

کاروتنوئیدها رنگیزه‌هایی هستند که در تمام برگ‌های سبز و همچنین در قسمت‌های بدون سبزینه گیاه یافت می‌شوند. در برگ‌های سبز، کاروتنوئیدها همراه با کلروفیل در داخل کلروپلاست قرار دارند که در اثر غالب بودن رنگ سبز کلروفیل، رنگ زرد یا نارنجی آنها مخفی می‌باشد (۲۰). کاروتنوئیدها سه نقش عمده در گیاه دارند: اول اینکه نور در طول موج ۴۰۰ تا ۵۵۰ نانومتر را جذب و به کلروفیل a انتقال می‌دهد، نقش دوم کاروتنوئیدها این است که با دفع رادیکال‌های آزادی که به طور طبیعی طی فتوسنتز تولید می‌شوند، از دستگاه فتوسنتزی حفاظت می‌کنند و نقش سوم آن‌ها حفظ فتوسیستم I، ثبات پروتئین‌های دریافت کننده نور و ثبات غشای

سنتز کاروتنوئیدها را افزایش داده است. همچنین افزایش غلظت کاروتنوئید در اثر کاربرد نانوکلات آهن، می‌تواند با کاهش رادیکال‌های آزاد باعث حفظ و پایداری کلروفیل شود. می‌توان گفت که عنصر آهن برای سنتز کلروپلاست و کاروتنوئیدها لازم است (۳۶).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش، کاربرد اسیدفولویک و نانوکلات آهن بر بیشتر شاخص‌های گلدهی و بیوشیمیایی ژربرا تأثیر مثبتی داشته است. کاربرد غلظت کم اسید فولویک (۵۰ میلی گرم در لیتر) به همراه نانوکلات آهن باعث زود گلدهی شد. اسید فولویک در طول ساقه گل‌دهنده تأثیر نداشت و کاربرد آن باعث

منابع

کاهش وزن خشک گل شد این در حالی است که کاربرد همزمان نانوکلات آهن و اسید فولویک باعث افزایش ماندگاری گل روی بوته شد. نانو کلات آهن همچنین باعث افزایش طول ساقه گل‌دهنده، عمر گلجای و وزن خشک گل شد. در اکثر شاخص‌های بیوشیمیایی، کاربرد همزمان ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولویک و ۲ گرم در لیتر نانوکلات آهن نتیجه بهتر و یا مطلوبی روی شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به تیمار شاهد داشت، هرچند که بیشترین غلظت تیمارها نیز تأثیر منفی نداشته و گاه در بعضی شاخص‌ها تأثیر بیشتری نیز نشان دادند. به نظر می‌رسد، از بین تیمارهای مختلف، غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک و غلظت‌های ۲ و ۴ گرم در لیتر نانوکلات آهن می‌توانند برای گیاه ژربرا تأثیرگذار و مفید باشند.

1. Ahmadi M., Ehsanzadeh P., and Jabbari F. 2007. Introduction to Plant Physiology (translated), Volume 2, Tehran University Press. 681 p. (In Persian).
2. Akbarian M.M., Heidari Sharifabad H., Noormohammadi G., and Darvish Kojouri F. 2012. The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa*). Annals of Biological Research, 3(12): 5651-5958.
3. Askary M., Amirjani M.R., and Saberi T. 2016. Comparison of the effects of nano-iron fertilizer with iron-chelate on growth parameters and some biochemical properties of *Catharanthus roseus*. Journal of Plant Nutrition, 7(40): 974-982.
4. Atiyeh R.M., Lee S., and Edwards C.A. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology, 84: 7-14.
5. Bagi H., and Chamani E. 2016. Effects of iron nanoparticles and humic acid on growth, development and vase life of cut rose flower cv. White Nablus under hydroponic conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 7(3): 103-112. (In Persian with English abstract).
6. Balazadeh S., and Hassanpour Asil M. 2014. The Effect of Humic Acid and nano calcium chelate on growth *Chrysanthemum morfolium*. International conference on sustainable development, strategies and challenges with a focus on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. Tabriz. (In Persian).
7. Bekhrad H., Niknam F., and Mahdavi B. 2017. Effects of nano fertilizer and different levels of nitrogen on grain and oil yield of sesame (*Sesamum indicum* L.). Journal of Plant Ecophysiology, 9(28): 110-122. (In Persian).
8. Briat J.F., Curie C., and Gaymard F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. Current Opinion in Plant Biology, 10(3): 82-276.
9. Davoodi Fard M., Habibi D., and Davoodi Fard F. 2012. Effects of salt stress on cell membrane stability, chlorophyll and yield components in wheat inoculated with plant growth promoting bacteria and humic acid. Iranian journal of Agronomy and Plant Breeding, 8(2): 71-86. (In Persian with English abstract).
10. Dolatian N. 2013. The effect of humic acid on quantitative and qualitative characteristics of strawberry var. Selva under greenhouse conditions. MSc Thesis, Ferdowsi University of Mashhad.
11. Dole J.M., and Wilkins H.F. 2004. Floriculture, principles and species. Prentice Hall Upper Saddle River New Jersey. Pp. 356-360.
12. Dudley J.B., Pertuit Jr, A.J., and Toler J.E. 2004. Leonardite influences zinnia and marigold growth. HortScience, 39: 251-255.
13. Eid R.A., and Abou-Leila B.H. 2006. Response of croton plants to gibbeellic acid, benzyladenine and ascorbic acid application. Word Journal of Agricultural Sciences, 2(2): 174-179.
14. Gill S.S., and Tuteja N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 909-930.
15. Hadavi E., Salehi M., and Moradi P. 2011. Application of microorganisms compared with nanoparticles of silver, humic acid and gibberellic acid on vase life of cut gerbera goodtimming. Journal of Ornamental and Horticultural Plants, 1(1): 27-33.
16. Haghighi M., Nikbakht A., Xia Y.P., and Pessarakli M. 2014. Influence of humic acid in diluted nutrient solution

- on growth, nutrient efficiency and postharvest attributes of gerbera. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 45: 177-188.
17. Karbalaye Golizadeh Sh., Mir Mahmudi T., and Khalili Aghdam N. 2016. Morpho-physiological changes hempseed (*Cannabis sativa* L.) traits as affected by seed priming with fulvic acid and hydrogen peroxide. Journal of Crop Ecophysiology (Agricultural Science), 10(1): 73-88. (In Persian with English abstract).
 18. Kheiry A. Vaisi M., and Sanikhani M. 2017. Effect of micro-elements of Fe, Zn and Mn on some characteristics of Borage (*Borago officinalis* L.). Journal of Plant Ecophysiology, 9 (29): 183-194. (In Persian with English abstract).
 19. Kholde Barin B., and Eslamzadeh T. 2005. The nutrition mineral of high plants. Shiraz University Press. First volume, 456 p. (In Persian).
 20. Khosh Khoui M., Sheibani B., Rouhani I. and Tafazzoli E.A. 2008. Principles of gardening. Shiraz University Press, 19nd 596 p. (In Persian).
 21. Lichtenthaler H.K., and Wellburn A.R. 1987. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.
 22. Lu P., He Sh., Li H., Cao J., and Xu H.L. 2010. Effects of nano-silver treatment on vase life of cut rose cv. Movie Star flowers. Journal of Food, Agriculture and Environment, 8(2): 1118-1122.
 23. Maleki Farahani S., Khalesi A., and Sharghi Y. 2015. Effect of nano iron chelate fertilizer on iron absorption and saffron (*Crocus sativus* L.) quantitative and qualitative characteristics. Asian Journal of Biological Science, 8(2): 72-82.
 24. Marschner H. 2012. Mineral nutrition of higher plants. 3rd Ed. New York, USA. 672p.
 25. Moghadam A.R., Vattani H., Baghaei B., and Keshavarz N. 2012. Effect of different levels of fertilizer nano-iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Research Journal of Applied Sciences, 4(12): 4813-4818.
 26. Mohamadipoor R., Sedaghatpour S., and Mahboub-Khomami A. 2013. Effect of application of iron fertilizer in two methods foliar and soil application on growth characteristics of *Spathiphyllum* illusion. European Journal of Experimental Biology, 3(1): 232-240.
 27. Morard P., Eyheraguibel B., Morard M., and Silvestre J. 2011. Direct effects of humic- like substances on growth, water and mineral nutrition of various species. Journal of Plant Nutrition, 34: 46-59.
 28. Mothaghi D. 2015. Fulvic acid and its role in agriculture. Datis Agrochemicals R&D Department.
 29. Nadi E., Ayneband A., and Mogaddam M. 2013. Effect of nano-iron chelate fertilizer on grain yield, protein percent and chlorophyll content of Faba bean (*Vicia faba* L.). International Journal of Biosciences, 3(9): 272-276.
 30. Nardi S., Pizzeghello D., Gessa C., Ferrarese L., Trainotti L., and Casadoro G. 2000. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. Soil Biology and Biochemistry, 32: 415-419.
 31. Nasiri Y., Zehtab Salmasi S., Nasrullah Zadeh S., Ghassemi Gholezani K., Najafi N., and Javanmard A. 2013. Evaluation of foliar spray of ferrous sulfate and zinc sulfate on yield and nutrients concentration of aerial parts in German chamomile. Journal of Agricultural Science, 23(3), 105-115. (In Persian with English abstract)
 32. Nazari Deljou M., Pour Youssef M., Karamian R., and Jaberian Hamedani H. 2012. Effect of cultivar on water relations and postharvest quality of gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f.) cut flower. World Applied Sciences Journal, 18(5): 698-703.
 33. Rezaei R. Hosseini S.M. Shabanali Fami H., and Sarafrazi A.M. 2009. An identification and analysis the mechanisms of nanotechnology development in Iranian agricultural sector. Iranian Journal of Agricultural Economics and Development, 42(3): 379-388. (In Persian with English abstract)
 34. Salman S.R., Abou-Hussein S.D., Abdel-Mawgoud A.M.R., and El-Nemr M.A. 2005. Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. Journal of Applied Sciences Research, 1: 51-58.
 35. Shahsavan Markadeh M., and Chamani E. 2014. Effects of various concentrations and time of humic acid application on quantitative and qualitative characteristics of cut stock flower *Matthiola incana* 'Hanza'. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 5(19): 157-170. (In Persian with English abstract)
 36. Shamloo A., and Roozbahani A. 2016. Effect of amino acids and microelements on the rate of photosynthetic pigments content and yield of red bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Plant Physiology, 7(21): 136 - 150.
 37. Suh H.J., Yoo K.S., and Suh S.G. 2014. Effect of foliar application of fulvic acid on plant growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Horticulture Environment and Biotechnology, 55(6): 455-461.
 38. Yang C.M., Ming C.W., Lu Y.F., Chang I.F., and Chou C.H. 2004. Humic substances affect the activity of chlorophylls. Journal of Chemical Ecology, 30(50): 1057-1065.
 39. Yazdani B. 2010. Effect of different concentrations of humic acid and fulvic acid on the qualitative and quantitative characteristics of *Gerbera jamesonii*. Master's Thesis. Isfahan University of Agricultural Sciences. (In Persian).



Effect of Fulvic Acid and Iron Nano Chelate Application on Flowering and Vase Life of *Gerbera jamesonii* cv. Dune

S. Hajizadeh¹- Z. Jabbarzadeh^{2*}- M.H. Rasouli-Sadaghiani³

Received: 24-04-2019

Accepted: 07-10-2019

Introduction: *Gerbera jamesonii* is a permanent, herbaceous and chilling-sensitive plant species from the family Asteraceae that is native to hot regions. The species has high color diversity and it is among the top ten cut flowers in the world. Fulvic acids are a family of organic acids, natural compounds, and components of the humus (which is a fraction of soil organic matter). They are similar to humic acids, with differences being the carbon and oxygen contents, acidity degree of polymerization, molecular weight and color. Fulvic acid remains in solution after removal of humic acid from humin by acidification. Fulvic acids are of relatively low molecular mass and less biologically active than humic acids. Among micronutrients, Iron (Fe) is a cofactor for approximately 140 enzymes that catalyze unique biochemical reactions and is an essential element for growth of plants. Lack of iron causes young leaves yellow and photosynthesis activity reduce significantly and consequently biomass reduce. Iron plays many essential roles in plant growth and development, including chlorophyll synthesis, thylakoid synthesis, chloroplast development, contribution in RNA synthesis and improvement the performance of photosystems. Nano-fertilizers can be substituted for conventional fertilizers. Studies showed that the effect of nano-particles on plants can be beneficial (seedling growth and development).

Materials and Methods: In order to investigate the effect of different concentrations of fulvic acid and iron nano chelate on flowering of gerbera as well as flower vase life of gerbera cv. Dune, an experiment was conducted as a factorial based on a completely randomized design with three replications during the years 2016-2017. The medium was included peat moss 65%, perlite 30% and cocopeat 5%. The seedlings of tissue cultured plants were planted into pots (size-20) (volume 7 L, height 19 cm, diameter 24 cm) in hydroponic greenhouse conditions. Day/night temperature regime was set at 20-25/13-16°C and light intensity at 400-500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The plants were fed three times a week. The treatments were: fulvic acid at four concentrations of 0, 50, 100 and 250 mg L^{-1} as drench and iron nano chelate at 4 concentrations of 0, 1, 2 and 4 g L^{-1} as foliar application (15 days intervals for 4 months). Two weeks after the last treatment, morphological parameters were measured. They were included flower fresh and dry weight, flowering stem length, flower longevity and vase life and the number of days to the appearance of flower buds. Also, the recorded physiological parameters included chlorophyll a, b and total chlorophyll, chlorophyll index and carotenoid.

Results and Discussion: The results of this study showed that, flower dry weight was increased with increasing the concentration of iron nano chelate. The highest flower dry weight (6.43g) was obtained from plants treated with 4 g L^{-1} iron nano chelate and the lowest one (5.57 g) from control plants, but flower fresh weight was not affected by these treatments. The highest length of flowering stem was observed in treatment of 2 g L^{-1} iron nano chelate. The lowest time to flowering was obtained from 50 mg L^{-1} fulvic acid without application of iron nano chelate. The results of means comparisons showed that fulvic acid and iron nano chelate caused to increase flower longevity significantly. The highest flower longevity (19 days) was obtained from 250 mg L^{-1} fulvic acid and 1 g L^{-1} iron nano chelate and the lowest mean (12.66 days) was related to control plants. Also, most of treatments caused to increase vase life compared to control. The highest vase life (14.66 days) was observed in 1 g L^{-1} iron nano chelate without fulvic acid while the lowest mean (6.66 days) was observed in control. Chlorophyll content (chlorophyll a, b and total chlorophyll) and carotenoid content of gerbera increased with increasing concentrations of fulvic acid and iron nano chelate in compared with the control.

Conclusion: According to the results obtained from this research, application of fulvic acid and iron nano chelate have a positive effect on most flowering and biochemical indices. Application of low concentrations of fulvic acid (50 mg L^{-1}) supplemented with iron nano chelate caused to early flowering. Fulvic acid didn't have any effect on flowering stem length and its application reduced the flower dry weight. While combined application of fulvic acid and iron nano chelate caused to increase flower longevity. Also iron nano chelate

1 and 2- Gratuated (MSc) student of Ornamental Plants and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

(*- Corresponding Author Email: z.jabbarzadeh@urmia.ac.ir)

3- Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

caused to increase flowering stem length, vase life and flower dry weight. In most of the biochemical indices, combined treatment of 100 mg L^{-1} of fulvic acid and 2 g L^{-1} of iron nano chelate had better or favorable result on measured indices compared to the control treatment although the highest concentration of treatments did not have a negative effect and sometimes in some indicators also have more impact. Among these treatments, the concentrations of 100 and 250 mg L^{-1} fulvic acid and 2 and 4 g L^{-1} iron nano chelate can be effective for gerbera plant.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll, Flower dry weight, Flower longevity



شبیه سازی پاسخ جوانه زنی هندوانه (*Citrullus lanatus* Thunb.) به دما و پتانسیل آب

سید فرهاد صابر علی^{۱*} - حسین نستری نصرآبادی^۲ - زهرا شیرمحمدی علی اکبرخانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۱۴

چکیده

جوانه زدن کامل و یکنواخت که شرط لازم برای استقرار گیاهچه های قوی و نهایتاً تولید موفق یک محصول است، تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی بویژه حرارت و رطوبت بستر کشت قرار می گیرد. به منظور مطالعه تأثیر دما و تنش خشکی بر جوانه زنی بذر هندوانه و کمی سازی پاسخ جوانه زنی با مدل های زمان حرارتی-رطوبتی، آزمایشی به صورت فاکتوریل با هفت سطح دما شامل ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس و شش سطح تنش خشکی شامل ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۲۵- مگاپاسکال انجام شد. نتایج نشان داد بطور متوسط در همه سطوح دمایی با کاهش پتانسیل اسمزی، میزان جوانه زنی کاهش یافت، با این وجود شدت این کاهش در محدوده حرارتی ۲۵ درجه سانتیگراد کمتر از دماهای بالاتر و پایین تر آن بود. کمینه و بیشینه دما برای جوانه زنی هندوانه در روش رگرسیون خطی به ترتیب ۱۰/۷ و ۴۰/۰ درجه سانتیگراد، و در روش مدل زمان حرارتی ۱۱/۵ و ۴۰/۱ درجه سانتیگراد برآورد گردید. درجه حرارت مطلوب جوانه زنی نیز در روش رگرسیون و مدل زمان حرارتی-رطوبتی به ترتیب ۲۵/۳ و ۲۵/۲ درجه سانتیگراد برآورد شد. مقدار پتانسیل آب پایه برای جوانه زنی هندوانه در مدل زمان رطوبتی در درجه حرارت های مختلف نیز بین ۰/۴۵- تا ۱/۲۳- مگاپاسکال محاسبه شد، با این وجود در مدل زمان حرارتی-رطوبتی مقدار پتانسیل آب آستانه برای جوانه زنی در دامنه حرارتی پایین تر و بالاتر از حد مطلوب حرارتی بین ۱/۱- تا ۱/۲- مگاپاسکال تخمین زده شد. بدین ترتیب نتایج نشان داد که با افزایش حرارت بستر کشت پتانسیل آب پایه برای جوانه زنی افزایش خواهد یافت. در نهایت نتایج مدل نشان داد که مدل زمان حرارتی-رطوبتی به خوبی قادر است بیش از ۹۰ درصد تغییرات جوانه زنی بذر هندوانه را در پاسخ به حرارت و رطوبت کمی کند.

واژه های کلیدی: تجزیه پروبیت، تنش خشکی، پتانسیل آب پایه و مدل زمان حرارتی-رطوبتی

مقدمه

از گیاهان می باشد (۶ و ۱۰). جوانه زنی گیاهان در یک دامنه حرارتی بنام دماهای اصلی (کاردینال) جوانه زنی اتفاق می افتد، که شامل سه دمای کمینه، مطلوب و بیشینه است. دمای مطلوب جوانه زنی دمایی است که بیشترین میزان جوانه زنی در کوتاه ترین زمان ممکن را در یک توده بذری باعث می شود. درجه حرارت های بالاتر و پایین تر از حد مطلوب باعث کاهش سرعت و درصد جوانه زنی می شود. دمای کمینه (پایه) و بیشینه (سقف)، دماهایی هستند که به ترتیب در دماهای پایین تر و بالاتر از آنها، جوانه زنی متوقف شود (۳ و ۴). بطور مثال گزارش شده دمای مطلوب برای جوانه زنی بسیاری از گونه های گیاهی در حدود ۲۰ درجه سانتیگراد می باشد و افزایش یا کاهش در محدوده ۱۰ درجه ای از این دما، اگر چه ممکن است اثر بازدارنده بر سایر مراحل رشدی نداشته باشد، اما موجب کاهش میزان جوانه زنی خواهد شد (۷ و ۱۲). از دیگر عوامل محیطی ضروری برای جوانه زنی بذور گیاهی جذب رطوبت کافی می باشد، که خود تابعی از پتانسیل آب خاک و بذر گیاه می باشد (۶). جذب آب کافی توسط بذور برای شروع واکنش های بیوشیمیایی، شروع تقسیم و بزرگ شدن سلولهای روپان

جوانه زنی مرحله ابتدایی و بحرانی شروع چرخه زندگی در گیاهان می باشد (۶). جوانه زدن سریع، کامل و یکنواخت بمنظور استقرار گیاهچه های قوی، در واقع شرط لازم موفقیت تولید یک محصول است. بنابراین شناخت عوامل موثر بر جوانه زنی و نحوه پاسخ گیاهان به آنها اساس اتخاذ مدیریت های زراعی مناسب در مزرعه را تشکیل می دهد (۱۹).

جوانه زنی بذر توسط عوامل مختلف محیطی از قبیل حرارت، رطوبت و اکسیژن بستر کشت کنترل می شود که در این میان دما و رطوبت از مهمترین عوامل محیطی کنترل کننده جوانه زنی در بسیاری

۱ و ۲- استادیار ان گروه علوم و مهندسی باغبانی، مجتمع آموزش عالی تربت جام

(*)- نویسنده مسئول: Email: sf.saberali@yahoo.com

۳- استادیار گروه علوم و مهندسی آب، مجتمع آموزش عالی تربت جام
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.80628

بذر در فرآیند جوانه‌زنی ضروری است. افزایش پتانسیل آب بستر کشت بذور، باعث کاهش جذب آب توسط آنها و نهایتاً کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی خواهد شد (۶ و ۲۳).

مدل‌های ریاضی رشد و نمو گیاهی، از جمله ابزار کارآمد در بهبود مدیریت کشت و کار محصولات زراعی و باغی هستند. بطور مثال تخمین طول دوره رشد و زمان میوه‌دهی گیاه در پاسخ به شرایط محیطی موجود در منطقه، می‌تواند تولیدکنندگان را برای تخمین تعیین زمان مناسب کاشت برای رسیدن محصول به بازار اقتصادی مناسب یاری نماید (۱۳). انواع مختلفی از مدل‌های ریاضی برای شرح رابطه بین سرعت جوانه‌زنی بذر گیاهان با دما و رطوبت استفاده شده است. بطور مثال بمنظور کمی کردن اثر حرارت، رگرسیون خطی سرعت جوانه‌زنی در برابر درجه حرارت‌های کمتر از حد مطلوب و بالاتر از حد مطلوب از جمله این روش‌هاست (۱۷ و ۲۶). همچنین پاسخ جوانه‌زنی بذر به اثر دما و پتانسیل آب را می‌توان با مدل‌های زمان حرارتی (Thermal time)، زمان رطوبتی (Hydrotime time) و زمان حرارتی-رطوبتی (Hydrothermal time) که به ترتیب پاسخ به دما، پاسخ به رطوبت و پاسخ به برهمکنش دما و رطوبت را کمی می‌کنند، مدل‌سازی کرد (۲ و ۱۷). زمان حرارتی-رطوبتی (θ_{HT}) در ابتدا برای گیاه چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) و بر اساس رابطه خطی بین سرعت جوانه‌زنی و پتانسیل آب در یک دمای ثابت پیشنهاد شده است (۱۷). زمان حرارتی-رطوبتی در واقع شامل تجمع دماهای بالاتر از یک دمای پایه (T_b) و تجمع رطوبت بیش از یک آستانه آبی (ψ_b) است که نهایتاً منجر به جوانه‌زنی بذر می‌شوند (۲۴ و ۲۵). از مدل‌های زمان حرارتی-رطوبتی به طور گسترده‌ای برای پیش‌بینی جوانه‌زنی هم در گونه‌های بومی و زراعی معرفی شده استفاده شده است که از جمله می‌توان به گوجه (*Lycopersicon esculentum* Mill.)، هویج (*Daucus carota* L.)، سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.) اشاره کرد (۳، ۱۴، ۱۵ و ۳۵).

محصولات جالیزی نزدیک به ۳ درصد از سطح زیر کشت کشور و حدود ۱۰ درصد از کل تولید محصولات کشاورزی را به خود اختصاص می‌دهند. در بین محصولات جالیزی، گیاه هندوانه (*Citrullus lanatus* Thunb.) به تنهایی ۴۰ درصد از این سطح زیر کشت ایران را به خود اختصاص می‌دهد (۳۳). با توجه به اهمیت تولید هندوانه در کشور، این تحقیق با هدف تعیین درجه حرارت‌های کاردینال برای مرحله جوانه‌زنی گیاه هندوانه و همچنین کمی کردن پاسخ جوانه‌زنی آن به برهمکنش دما و رطوبت انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه مرکزی مجتمع آموزش

عالی تربت جام با هدف کمی کردن جوانه‌زنی بذر گیاه هندوانه در پاسخ به دما و رطوبت بستر کشت انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پتانسیل آب در سطوح ۰، ۲۵/۰، ۵۰/۵، ۷۵/۰، ۱۰۰/۰ و ۱۲۵/۰- مگاپاسکال و دمای ثابت در سطوح ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد بود. برای ایجاد پتانسیل‌های مختلف آب ترکیب پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ استفاده گردید. بمنظور تهیه محلول‌های کشت با پتانسیل مورد نظر از رابطه ارایه شده توسط میشل و کافمن (۳۲) استفاده گردید. تیمارهای حرارتی توسط ژرمیناتور چهارقلو با توان تامین ۴ درجه حرارت همزمان و با دقت نیم درجه سانتی‌گراد اعمال گردید.

بذرهای رقم هندوانه کریمسون سوئیت (Crimson Sweet) از فروشگاه معتبر توزیع سم، بذر و کود تهیه گردید شد. بذور هندوانه قبل از انجام آزمایش بطور کامل با آب مقطر شسته شدند. این کار بمنظور حذف بقایای قارچ‌کش‌های بذور بمنظور جلوگیری از تأثیر احتمالی در پتانسیل بستر کشت، انجام گردید. بذرهای هندوانه قبل از کشت با محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شده، و سپس با آب شهری و نهایتاً آب مقطر کاملاً شسته شدند. پس از آماده‌سازی محلول‌های پلی اتیلن گلیکول با پتانسیل‌های مختلف، محلول‌های تهیه شده جهت هم‌دمای شدن با دماهای مختلف به مدت ۲۴ ساعت در ژرمیناتور با دماهای مورد نظر قرار گرفت. قبل از کشت بذور، پتری دیش‌ها برای ضدعفونی به مدت ۲۴ ساعت در داخل محلول هیپوکلریت ۱۰ درصد قرار گرفته و بعد از آن با آب مقطر کامل شسته و در آون خشک شدند. از اشعه فرابنفش هود میکروبی نیز به مدت ۲ ساعت برای ضد عفونی کاغذهای صافی، پنس‌ها و ضد عفونی مجدد پتری‌ها قبل از کشت بذور استفاده شد. بمنظور جلوگیری از تغییر احتمالی پتانسیل آب در اثر جذب آب توسط بستر کشت، قبل از کشت کاغذ صافی مورد استفاده بعنوان بستر کشت با محلول‌های با پتانسیل‌های مختلف اشباع گردید. سپس در سه تکرار، ۲۵ بذر بر روی یک لایه کاغذ صافی از پیش اشباع شده، کشت شد. بعلاوه ۵ میلی لیتر از محلول پلی اتیلن گلیکول مورد نظر برای تیمارهای خشکی و ۵ میلی لیتر آب دوبار تقطیر برای تیمار شاهد (صفر) به هر پتری‌دیش اضافه گردید.

تمام پتری‌دیش‌ها هر روز توزین شده و به اندازه اختلاف وزن آن‌ها با وزن اولیه در شروع آزمایش، به آن‌ها آب مقطر اضافه گردید. این کار به جهت جلوگیری از تغییر غلظت و نهایتاً تغییر پتانسیل هر محلول در اثر تبخیر آب صورت گرفت (۲۱). لازم به ذکر است در انتهای هفته اول و دوم نیز محلول‌های تازه از پلی اتیلن گلیکول با پتانسیل‌های مورد نظر تهیه و بذور بعد از شستشو با آب مقطر برای ادامه فرایند جوانه‌زنی در هفته دوم و سوم به این محلول‌های تازه تهیه شده انتقال یافت. هر روز تعداد بذور جوانه زده شمارش می‌شدند و بذوری جوانه‌زده محسوب می‌شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل ۲

در مدل زمان رطوبتی نیز، زمان رطوبتی مورد نیاز برای جوانه‌زنی توسط رابطه ۵ توصیف شد. همچنین از رابطه ۶ بمنظور برآورد پارامترهای مورد نیاز مدل با استفاده از تجزیه پروبیت استفاده گردید (۹ و ۱۶):

$$\theta_H = (\psi - \psi_{b(g)}) t_g \quad \text{معادله ۵:}$$

معادله ۶: $Probite(g) = [\psi - (\theta_H/t_g) - \psi_{b(50)}]/\sigma_{\psi b}$
که در این رابطه ψ مقدار واقعی پتانسیل آب در آزمون جوانه‌زنی، $\psi_{b(50)}$ پتانسیل آب آستانه یا پایه برای رخداد ۵۰ درصد جوانه‌زنی، θ_H زمان رطوبتی و $\sigma_{\theta T}$ انحراف معیار پتانسیل آب پایه است.

در شرایطی که حرارت و رطوبت هر دو تغییر کنند، با استفاده از مفهوم زمان حرارتی-رطوبتی (رابطه ۷) و از طریق تجزیه پروبیت ضرایب مدل زمان حرارتی-رطوبتی برای دماهای کمتر (رابطه ۸) و بالاتر از حد مطلوب (رابطه ۹) جداگانه تخمین زده شد (۱۲ و ۱۶):

$$\theta_H = (\psi - \psi_{b(g)})(T - T_b)t_g \quad \text{معادله ۷:}$$

معادله ۸: $Probite(g) = \{[\psi - (\theta_{HT}/(T - T_b)t_g) - \psi_{b(50)}]\}/\sigma_{\psi b}$
معادله ۹:

$$Probite(g) = \{[\psi - K_T(T - T_b) - (\theta_{HT}/(T - T_b)t_g) - \psi_{b(50)}]\}/\sigma_{\psi b}$$

در این رابطه θ_{TH} زمان حرارتی-رطوبتی و K_T شیب خط رابطه بین درجه حرارت‌های بالاتر از حد مطلوب و پتانسیل آب پایه می‌باشند، سایر پارامترها نیز در روابط قبلی مشخص گردیدند. لازم به ذکر است اگرچه حدود ضرایب مدل‌ها از طریق رابطه بین متغیرها و سرعت جوانه‌زنی تعیین گردید، با این‌وجود مقادیر قطعی از طریق تکرار روش تجزیه پروبیت که توسط الیس و همکاران (۱۸) ارائه شده، برآورد گردید. مقادیری که کمترین خطای برآورد را باعث شد به عنوان مقادیر قطعی مدل در نظر گرفته شدند. آنالیز واریانس داده‌ها بعد از آزمون نرمالیتی توزیع خطا، توسط نرم افزار SAS انجام پذیرفت. میانگین داده‌ها نیز با آزمون LSD و در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. برای برآورد ضرایب اولیه مدل از روش ارائه شده توسط استین‌ماس و همکاران (۳۸) در Excel و برای رسم نمودارها از نرم افزار SigmaPlot استفاده گردید.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی:

تجزیه واریانس نشان داد که دما، پتانسیل آب و اثر متقابل آنها تاثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی گیاه هندوانه دارند (جدول ۱). بذور مورد استفاده در این تحقیق در شرایط مطلوب حدود ۹۶ درصد قابلیت جوانه‌زنی داشتند، که بروز آن تحت تاثیر میزان دما و پتانسیل آب

میلی‌متر بود (۱۴). طول مدت آزمایش جوانه‌زنی ۲۱ روز تدارک دیده شد. با این‌وجود شمارش بذور در هر تیمار در صورتی که به مدت ۷۲ ساعت افزایشی در تعداد بذور جوانه زده مشاهده نشد، متوقف گردید. جهت کمی کردن واکنش جوانه‌زنی بذرها و تعیین سرعت جوانه‌زنی، در ابتدا درصد جوانه‌زنی تجمعی در هر دمای (T) یا پتانسیل آب (ψ) معین در برابر زمان رسم و معادله متناسب به آن برازش داده شد (۳۸)، و سپس زمان طول کشیده (t_g) برای رسیدن به صدک‌های مختلف جوانه‌زنی تجمعی (۱۰-۹۰ درصد) از این روی این تابع بر اساس روش ارایه شده توسط استین‌ماس و همکاران (۳۸) محاسبه گردید. بمنظور تخمین ضرایب مدل در دماهای کمتر و بالاتر از حد مطلوب، درجه حرارتی که منجر به بالاترین سرعت جوانه‌زنی در صدک ۵۰ام شد، به عنوان معیار تفکیک دامنه حرارتی کمتر و بیشتر از دمای مطلوب قرار گرفت. سپس در این دو دامنه حرارتی ضرایب مدل به روش رگرسیون خطی و همچنین مدل زمان حرارتی-رطوبتی برآورد گردید (۲۷ و ۳۸).

مدل زمان حرارتی:

زمان حرارتی لازم برای جوانه‌زنی هر کسری از یک توده بذری در دما کمتر از حد مطلوب و بیشتر از حد مطلوب با استفاده از رابطه ۱ و ۲ نشان داده می‌شود (۱۴). بمنظور برآورد ضرایب مدل حرارتی به روش تجزیه پروبیت و کمی کردن جوانه‌زنی در دماهای کمتر از حد مطلوب و بیشتر از حد مطلوب نیز به ترتیب از رابطه ۳ و ۴ استفاده شد. (۹ و ۴۰):

$$\theta_T(g) = (T - T_b) t_g \quad \text{معادله ۱:}$$

$$\theta_{Tc}(g) = (T_c - T) t_g \quad \text{معادله ۲:}$$

$$\text{معادله ۳:}$$

$$Probite(g) = [\log[(T - T_b) t_g] - \log(\theta_{T(50)})]/\sigma_{\theta T}$$

$$\text{معادله ۴: } Probite(g) = [T + (\theta_{Tc}/t_g) - T_{c(50)}]/\sigma_{Tc}$$

در این روابط، پروبیت شکل تبدیل شده‌ای از درصد جوانه‌زنی تجمعی است که این تبدیل باعث خطی شدن رابطه سیگموئیدی شکل پاسخ جوانه‌زنی نسبت به لگاریتم زمان می‌شود (۲۰ و ۲۲)، T دمای اعمال شده برای جوانه‌زنی، T_b درجه حرارت پایه که بذور در کمتر از آن دما قادر به جوانه‌زنی نباشد، T_c دمایی است که بذور در بیشتر از آن دما قادر به جوانه‌زنی نباشد، t_g زمان تا جوانه‌زنی نسبت-های مختلف جوانه‌زنی، θ_T زمان حرارتی، $\theta_{T(50)}$ زمان حرارتی میانه‌ای است که در آن ۵۰ درصد بذور جوانه بزنند، $T_{c(50)}$ حرارت سقف میانه‌ای است که در آن ۵۰ درصد بذور جوانه‌زنی ندارند، $\sigma_{\theta T}$ نیز انحراف معیار لگاریتمی زمان حرارتی در بین بذور یک توده بذری است و σ_{Tc} نیز انحراف معیار درجه حرارت سقف در یک توده بذری است.

مدل زمان رطوبتی:

سانتی گراد، درصد جوانه‌زنی بذور در پتانسیل آب ۰/۲۵- مگاپاسکال کمتر از شاهد بدون تنش بود. بررسی تاثیر سطوح تنش خشکی در هر سطح دمایی همچنین نشان داد که میزان جوانه‌زنی هندوانه در پتانسیل آب ۱/۲۵- مگاپاسکال به صفر رسید (جدول ۲). بعلاوه در پتانسیل ۱ مگاپاسکال تنها در محدوده حرارتی ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی گراد جوانه‌زنی وجود داشت. در صورتی که در پتانسیل آب ۰/۵- و ۰/۷۵- مگاپاسکال در دماهای ۱۵ و ۳۵ درجه سانتی گراد نیز جوانه‌زنی ثبت شد. پیش تر نیز اثر برهم کنش دما و تنش خشکی بر جوانه‌زنی تعدادی از گیاهان معنی‌دار گزارش شده بود (۱ و ۹). پیش‌تر نیز گزارش شده است که جوانه‌زنی هندوانه در دمای کمتر از ۱۵ و بیشتر از ۴۲ درجه سانتی گراد متوقف می‌شود (۳۰). میزان جوانه‌زنی هندوانه رقم Petite Sweet در ژرمیناتور و در دمای ثابت ۱۴ درجه سانتی گراد ۴۴ درصد گزارش شده است (۳۷). همچنین گزارش شده است که با کاهش پتانسیل آب بستر کاشت، دامنه حرارتی که جوانه‌زنی در آن در بیشینه خود قرار دارد، کاهش می‌یابد (۳۱ و ۳۵).

محیط کشت داشت. بطور کلی میانگین جوانه‌زنی در پتانسیل‌های مختلف نشان داد که دماهای کمتر و بیشتر از ۲۵ درجه سانتی‌گراد میزان جوانه‌زنی گیاه هندوانه را بطور معنی‌داری کاهش داد (جدول ۲). بعلاوه در دمای ۱۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد جوانه‌زنی رخ نمی‌دهد. پاسخ جوانه‌زنی هندوانه به دما تحت تاثیر پتانسیل آب بستر کشت قرار داشت. بطوری که در شرایط عدم تنش رطوبتی (۰ بار) و تنش خفیف رطوبتی (۰/۲۵- بار) درصد جوانه‌زنی در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد یکسان بود. با این‌وجود با تشدید تنش رطوبتی میزان جوانه‌زنی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بطور معنی‌داری بیشتر از دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج همچنین نشان داد که پاسخ جوانه‌زنی به پتانسیل آب بستر کشت تحت تاثیر دمای جوانه‌زنی قرار داشت. بطوریکه در محدوده حرارتی ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد، تنش رطوبتی حاصل از پتانسیل آب ۰/۲۵- مگاپاسکال باعث کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی نسبت به شاهد بدون تنش در هندوانه نشد (جدول ۲). در صورتی که در دماهای بالاتر از ۳۰ درجه و کمتر از ۲۰ درجه

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس درصد جوانه‌زنی بذور هندوانه در پاسخ به دما و پتانسیل‌های مختلف آب

Table 1- ANOVA for germination percentage affected by different levels of temperature and water potential in watermelon seeds

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	جوانه زنی Germination
دما Temprature (T)	6	11848.559**
پتانسیل آب Water potential (WP)	5	12083.315**
T×WP	30	1236.073**
خطا Error	82	1683.951
ضریب تغییرات CV (%)		7.2

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** Significant at 1% level.

جدول ۲- پاسخ درصد جوانه‌زنی بذر هندوانه به دماها و پتانسیل‌های مختلف آب

Table 2- Germination percentage of watermelon in response to different levels of temperature and water potential

دما Temperature (°C)	پتانسیل آب Water potential (MPa)						Mean
	0	-0.25	-0.5	-0.75	-1.0	-1.25	
10	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.0f
15	60.0a	31.1b	0.0c	0.0c	0.0c	0.0c	15.2e
20	95.6a	93.3a	80.0b	48.00c	15.6d	0.0e	55.56b
25	95.6a	93.3a	86.7a	60.0b	28.9c	0.0d	60.7a
30	93.33a	88.9a	75.6b	24.4c	4.4d	0.0d	47.8c
35	64.4a	53.3b	31.1c	4.4d	0.0d	0.0d	25.6d
40	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0f
Mean	58.1a	51.7b	39.0c	19.7d	6.9e	0.0f	

حروف مشابه در هر ردیف و ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

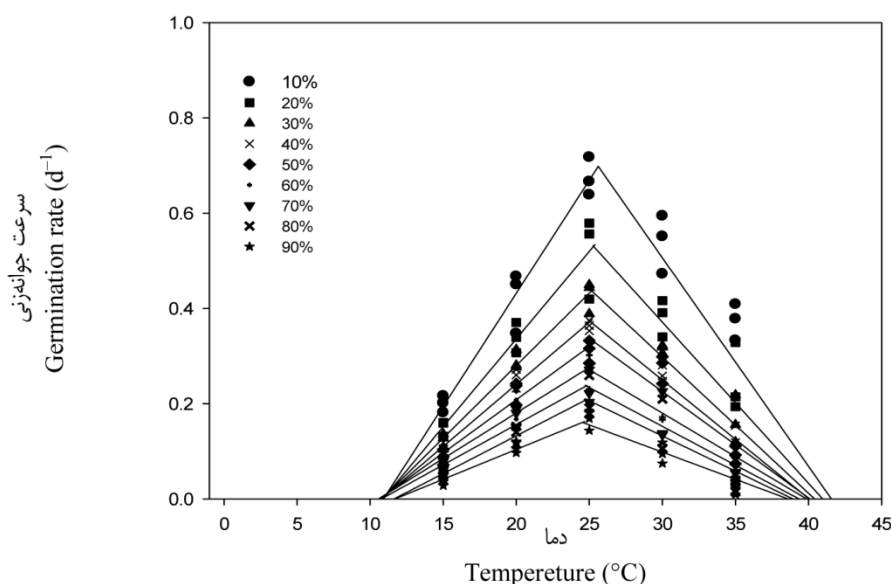
In each row and column, values with the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$), by LSD test.

پایه و حداکثر که باعث تخمین درصد جوانه زنی بذور با کمترین RMSE شدند نیز به ترتیب ۱۱/۵ و ۴۰/۱ درجه سانتی گراد در پتانسیل آب صفر بود (جدول ۴). اگرچه در پتانسیل‌های پایین آب کارایی مدل حرارتی برای تخمین جوانه زنی کاهش یافت (جدول ۳). تخمین حرارت پایه و حداکثر و شاخص‌های آماری آن در سایر پتانسیل‌های آب نیز در جدول ۴ نمایش داده شده است. اختلاف در تخمین درجه حرارت‌های پایه و حداکثر بین دو روش رگرسیون خطی ساده و تجزیه پروبیت مکرر در مورد گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شده است (۱۵ و ۴۰).

درجه حرارت مطلوب جوانه‌زنی در ارقام مختلف هندوانه بین ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی گراد گزارش شده است (۱۷ و ۳۰). درجه حرارت پایه، مطلوب و بیشینه برای جوانه‌زنی هندوانه (رقم Crimson sweet) به ترتیب ۱۰، ۲۸/۳ و ۴۰/۸ درجه سانتی گراد بوسیله مدل حرارتی تخمین زده شد (۵). تفاوت در برآورد درجه حرارت پایه در بین توده‌های بذری و در پتانسیل‌های مختلف آبی گزارش شده است، به همین منظور برآورد پارامترهای مدل زمان حرارتی اغلب در شرایط پتانسیل آب صفر برآورد می‌گردد (۱۱ و ۱۲). تغییر درجه حرارت پایه در پتانسیل‌های مختلف آب در برخی گیاهان همچون گل جالیز (*Orobanchae aegyptiaca Pers.*) و برخی گونه‌های مرتعی (*Eurotia lanata Moq.*) گزارش شده است (۲۹ و ۳۹).

کمی سازی اثر درجه حرارت

نتایج نشان داد که بیشترین سرعت جوانه‌زنی مربوط به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد بود و سرعت جوانه‌زنی در دماهای کمتر و بیشتر از آن کاهش یافت (شکل ۱). بمنظور کمی کردن پاسخ جوانه‌زنی به دما، درجه حرارت‌های موثر در جوانه‌زنی به دو دسته حرارت‌های کمتر از حد مطلوب و حرارت‌های بیشتر از حد مطلوب تقسیم شد، که درواقع درجه حرارتی که باعث بیشترین سرعت جوانه‌زنی گردید، مرز این تقسیم‌بندی بود (۴۰). بر اساس روش برون‌یابی رگرسیون خطی (۱۸)، تخمین درجه حرارت پایه در پتانسیل آب صفر به روش رگرسیونی نشان داد که که دامنه درجه حرارت‌های پایه، مطلوب و بیشینه در بین صدک‌های مختلف جوانه زنی (۹۰-۱۰ درصد) به ترتیب ۱۰/۶-۱۱/۶، ۲۴/۶-۲۵/۷ و ۴۱/۵-۳۸/۷ بود (شکل ۱ و جدول ۳). دمای پایه، مطلوب و بیشینه حرارتی برای وقوع ۵۰ درصد جوانه‌زنی به ترتیب ۱۰/۷، ۲۵/۳ و ۴۰/۱ درجه سانتی گراد بود (جدول ۳). کمی کردن تاثیر حرارت با استفاده از مدل زمان حرارتی و روش تجزیه پروبیت مکرر (۱۸) با برازش معادله ۳ و ۴ بترتیب برای درجه حرارت‌های کمتر و بیشتر از حد مطلوب در پتانسیل‌های آب مختلف شان داد که مدل زمان حرارتی بخوبی (با ضریب تبیین ۸۷ تا ۹۳ درصد) می‌تواند پویایی جوانه‌زنی در بذور هندوانه را در پتانسیل صفر آب توصیف کند (جدول ۳). همچنین در این روش مقدار دمای



شکل ۱- پاسخ سرعت جوانه‌زنی هندوانه به دما در پتانسیل آب صفر و تجزیه رگرسیون این پاسخ برای صدک‌های مختلف توده بذری.

بستر کشت میزان جوانه‌زنی بذور هندوانه کاهش یافت، و در دامنه حرارتی ۱۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد، میزان متوسط جوانه زنی از ۵۸

کمی سازی اثر پتانسیل آب

نتایج نشان داد که بطور متوسط با منفی تر شدن پتانسیل آب

دارد، با افزایش دما از ۱۵ به ۲۵ درجه سانتی‌گراد پتانسیل آب پایه مورد نیاز برای جوانه‌زنی بذر شوید از ۰/۴۵- به ۱/۲۳- مگا پاسکال رسید و با افزایش دما از ۲۵ به ۳۵ درجه سانتی‌گراد به ۰/۵۱- مگا پاسکال رسید. و مقدار زمان رطوبتی (θ_H) نیز با افزایش دما از ۱۵ به ۳۵ درجه سانتی‌گراد از ۵/۵ مگاپاسکال در روز به ۳ مگاپاسکال در روز کاهش یافت (جدول ۵).

درصد در پتانسیل صفر به مقدار صفر درصد در پتانسیل ۱/۲۵- مگاپاسکال رسید (جدول ۲). مدل زمان رطوبتی تغییرات جوانه‌زنی بذر هندوانه را در پاسخ به رطوبت در سطوح مختلف دمایی را با ضریب تبیین بین ۸۸ تا ۹۳ درصد به خوبی توصیف نمود (جدول ۵، شکل ۴). با این‌وجود برازش یک مدل رطوبتی که قادر به تخمین میزان جوانه‌زنی در همه سطوح حرارتی باشد، نتیجه موفقی نداشت (جدول ۵). نتایج نشان داد که در محدوده حرارتی که بذر هندوانه جوانه‌زنی

جدول ۳- دامنه درجه حرارت‌های کاردینال تخمین زده شده توسط رگرسیون خطی برای هندوانه در صدک‌های ۱۰-۹۰ جوانه‌زنی.

Table 3- Estimated cardinal temperature ranges by linear regression for watermelon germination in different percentiles (10-90%)

صدک‌ها Percentiles	دمای پایه T _b	دمای مطلوب T _o	دمای بیشینه یا سقف T _c or T _{max}
10	10.9	25.7	41.5
20	10.9	25.3	41.0
30	10.8	25.1	40.5
40	10.7	25.2	40.1
50	10.7	25.3	40.0
60	10.6	25.3	39.8
70	10.8	24.8	39.3
80	11.5	24.7	38.9
90	11.6	24.6	38.7

Figure 1- Germination rate of watermelon in response to temperature at water potential of 0 MPa, and regression analysis of germination response in different percentiles.

جدول ۴- ضرایب مدل زمان حرارتی برای تخمین جوانه‌زنی بذر هندوانه در دماهای کمتر (قسمت الف) و بیشتر از حد مطلوب (قسمت ب) در پتانسیل‌های مختلف آب

Table 4- Parameters of the thermal time model for prediction of watermelon germination at suboptimal and supraoptimal temperature ranges under different water potentials.

الف. دمای‌های کمتر از حد مطلوب: ۱۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد

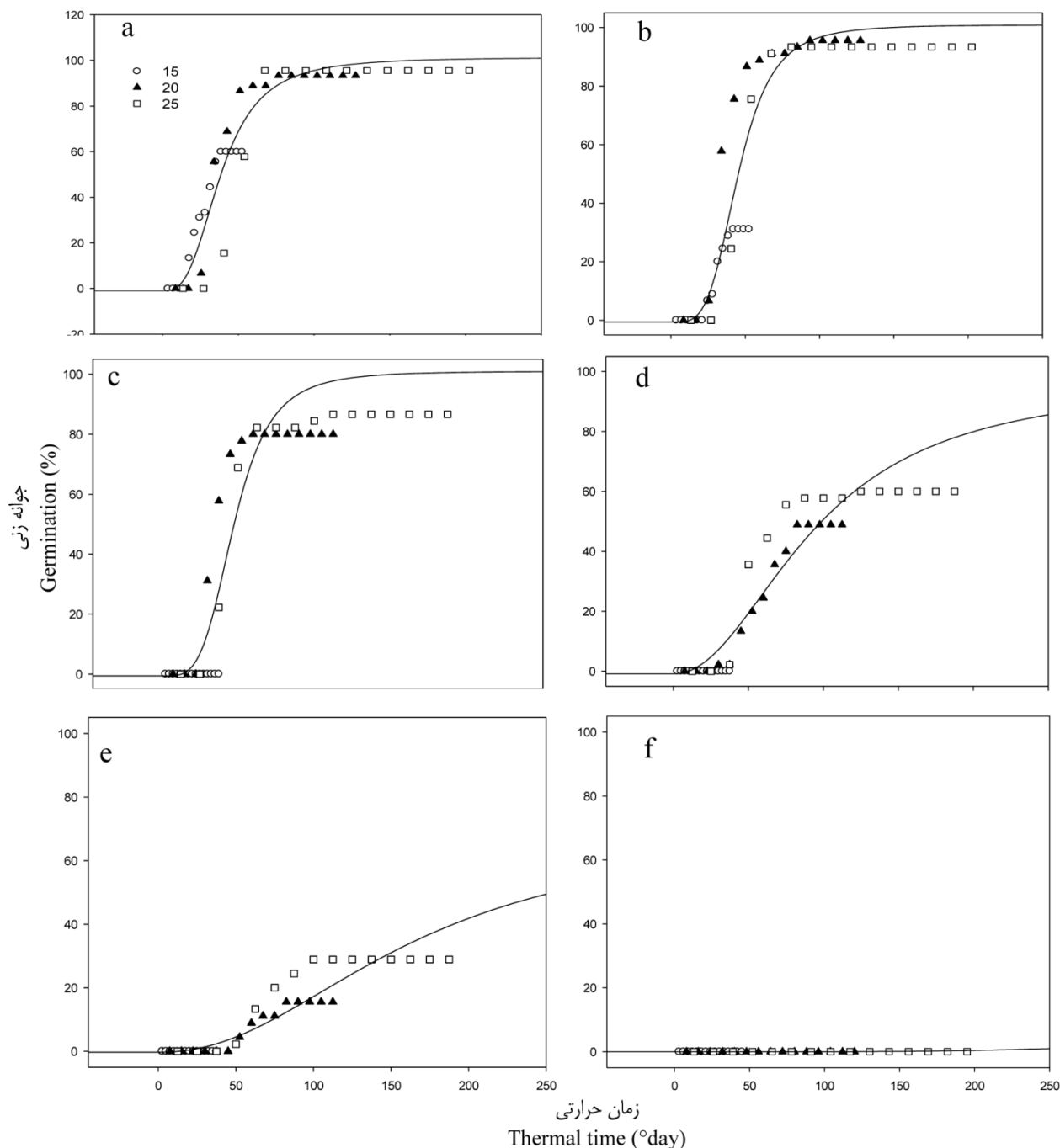
A. suboptimal temperature range: 15-25 °C

پتانسیل آب Water potential (Mpa)	$\theta_{T(50)}$ (Log °C.days)	T _b (°C)	$\sigma_{\theta T}$ (Log °C.days)	R ²	RMSE
0	1.58	11.5	0.23	0.93	0.10
0.25	1.65	11.5	0.18	0.92	0.12
0.50	1.67	12.5	0.18	0.90	0.13
0.75	1.99	12.5	0.35	0.90	0.08
1	2.37	12.5	0.39	0.87	0.06
1.25	-	-	-	-	-
Overall	1.88	12.5	0.38	0.37	0.29

ب. دمای‌های بیشتر از حد مطلوب: ۲۵-۳۵ درجه سانتی‌گراد

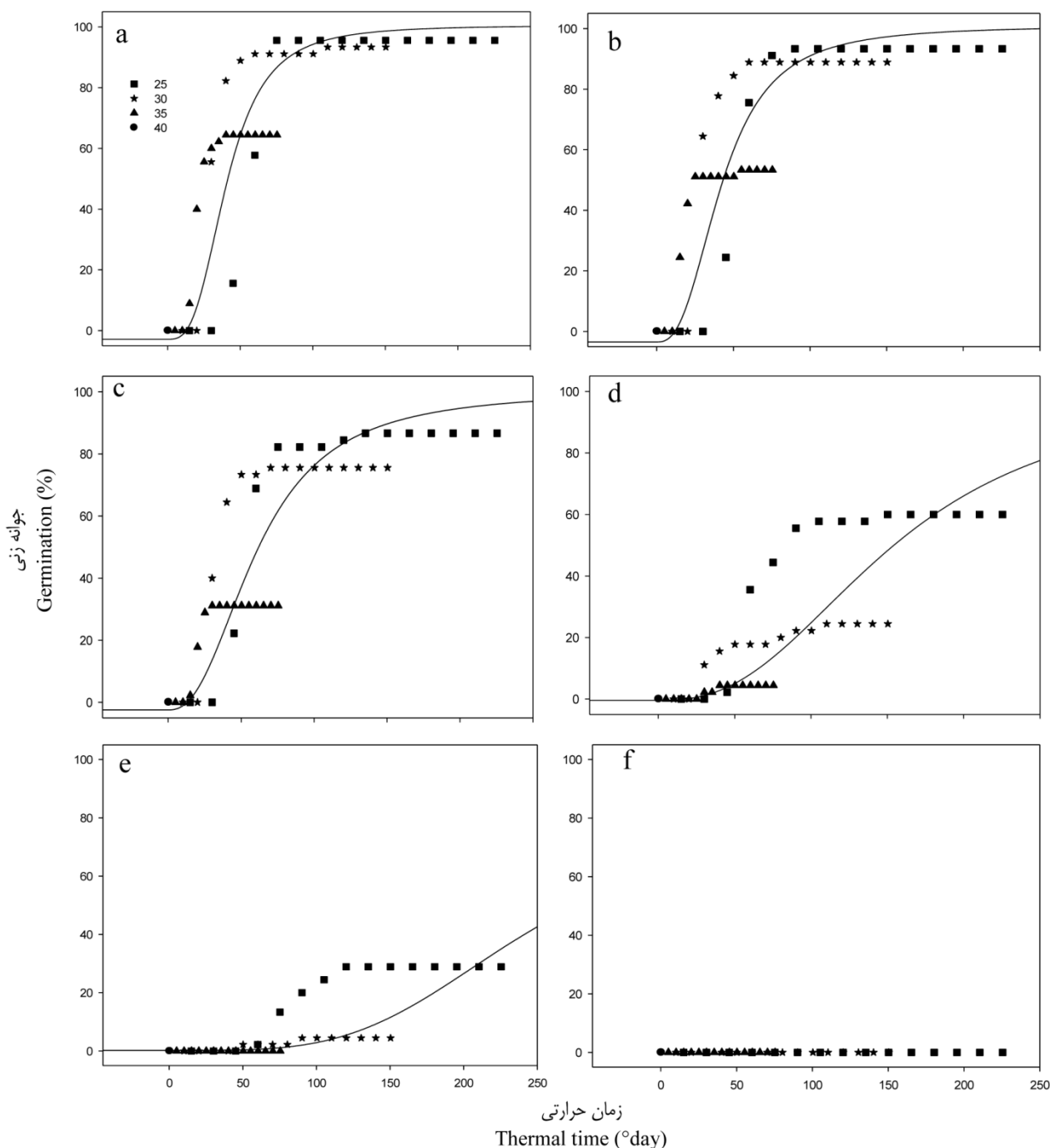
B. supraoptimal temperature range: 25-35 °C

پتانسیل آب Water potential (Mpa)	θ_{TC} (°C.days)	T _{c(50)} (°C)	σ_{TC} (°C)	R ²	RMSE
0	40	40.1	-3.87	0.87	0.14
0.25	40	39.7	-4.49	0.87	0.14
0.50	48	38.2	-5.45	0.88	0.12
0.75	120	37.1	-7.39	0.61	0.13
1	235	37.3	-8.19	0.45	0.08
1.25	-	-	-	-	-
Overall	57	37.0	-6.75	0.50	0.26



شکل ۲- مقادیر واقعی (نقاط) و شبیه‌سازی شده (خط) درصد جوانه‌زنی بذر هندوانه در پاسخ به درجه حرارت‌های کمتر از حد مطلوب (۱۵-۲۵) در پتانسیل آب صفر، -۰/۲۵ (الف)، -۰/۵ (ب)، -۰/۷۵ (ج)، -۱/۰ (د) و -۱/۲۵ (ه) مگاپاسکال. مقادیر شبیه‌سازی شده با استفاده از مدل حرارتی و با توجه به ضرایب نمایش داده شده در جدول ۴ بدست آمد.

Figure 2- The observed (symbols) and predicted (lines) germination percentage of watermelon in response to suboptimal temperature ranges (15-25 °C) at water potentials of (a) 0, (b) -0.25, (c) -0.5, (d) -0.75, (e) -1.0, (f) -1.25 MPa. The predicted values obtained by the thermal time model using the parameters were shown in Table 4.



شکل ۳- مقادیر واقعی (نقاط) و شبیه‌سازی شده (خط) درصد جوانه‌زنی بذر هندوانه در پاسخ به درجه حرارت‌های بیشتر از حد مطلوب (۲۵-۴۰) در پتانسیل آب صفر، (الف)، ۰/۵-، (ب)، ۰/۷۵-، (ج)، ۱/۰-، (د) و ۱/۲۵- (ه) مگاپاسکال. مقادیر شبیه‌سازی شده با استفاده از مدل حرارتی و با توجه به ضرایب نمایش داده شده در جدول ۴ بدست آمد.

Figure 3- The observed (symbols) and predicted (lines) germination percentage of watermelon in response to supraoptimal temperature ranges (25-40°C) at water potentials of (a) 0, (b) -0.25, (c) -0.5, (d) -0.75, (e) -1.0, (f) -1.25 MPa. The predicted values obtained by the thermal time model using the parameters were shown in Table 4.

درجه حرارت‌های بیشتر از حد مطلوب در گیاهان مختلف از جمله هندوانه پیشتر گزارش شده است (۵). کاهش زمان رطوبتی مورد نیاز

روند مشابه کاهش پتانسیل آب پایه در درجه حرارت‌های کمتر از حد مطلوب تا درجه حرارت مطلوب و روند افزایش پتانسیل آب پایه در

برای جوانه‌زنی بذور گیاهان با افزایش حرارت نیز در گونه‌های مختلف گیاهی پیشتر گزارش شده است (۴۰). توانایی جوانه‌زدن در پتانسیل آب کم‌تر به عنوان یکی از گزینه‌های سازگاری گیاهان با زیستگاه‌های خشک معرفی شده است (۸). افزایش پتانسیل آب پایه برای جوانه و کاهش زمان رطوبتی با افزایش دما پیشتر نیز گزارش شده است (۳ و ۴۰)، که این ویژگی می‌تواند باعث جوانه‌زنی سریع‌تر و مانع از جوانه‌زنی در رطوبت‌های کم شود (۲). پتانسیل آب پایه بالاتر باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی و درصد نهایی جوانه‌زنی شده و زمان رطوبتی بالاتر نیز کاهش سرعت جوانه‌زنی را در پی دارد (۱۱). تاثیر آب بر روند جوانه‌زنی پیچیده‌تر از اثر حرارت می‌باشد بخصوص در پتانسیل‌های آب کمتر، که امکان رخداد تنظیم اسمزی نیز هست (۳۴). همچنین بیان شده است که تخمین ضرایب مدل در دامنه متفاوت رطوبتی و حرارتی، فهم دلایل تفاوت جوانه‌زنی بین گونه‌های مختلف و مقایسه بین گونه‌ها را تسهیل می‌نماید (۲ و ۴۰).

کمی سازی برهمکنش حرارت و رطوبت

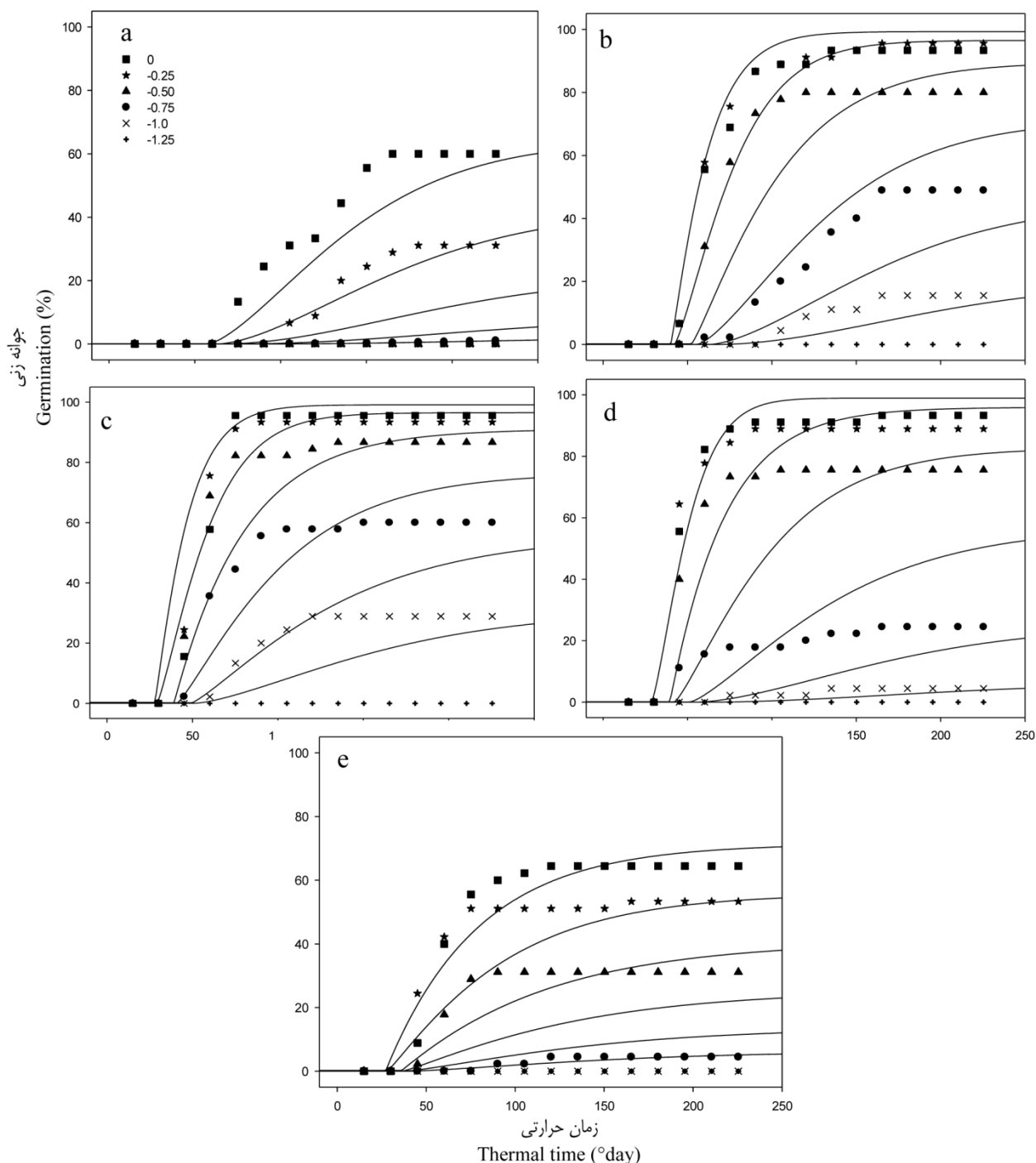
نتایج برازش مدل زمان حرارتی-رطوبتی نشان داد که این مدل می‌تواند ۹۰ تا ۹۲ درصد تغییرات جوانه‌زنی بذور هندوانه در سطوح مختلف رطوبتی را در دو دامنه حرارتی پایین تر و بالاتر از حد مطلوب را توصیف نماید (شکل ۵ و جدول ۶). نتایج نشان داد که با افزایش دما از دامنه حرارتی کمتر از حد مطوب به بیشتر از حد مطلوب، پتانسیل آب پایه برای جوانه‌زنی بذور هندوانه از $-1/13$ به $-1/2$ مگاپاسکال کاهش یافت. در مطالعه مشابهی پتانسیل آب آستانه ($\Psi_{b(50)}$) برای جلوگیری از ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذور هندوانه، $-0/96$ مگاپاسکال با انحراف معیار $0/21$ ($\sigma_{\Psi b}$) مگاپاسکالی گزارش شده است (۵). نتایج نشان داد که زمان حرارتی-رطوبتی مورد نیاز برای

جوانه‌زنی بذور هندوانه $40/5$ مگاپاسکال-درجه‌روز است. بعلاوه دمای مطلوب جوانه‌زنی آن نیز $25/2$ درجه سانتی‌گراد تخمین زده شد. درجه حرارت مطلوب جوانه‌زنی در ارقام مختلف هندوانه بین 24 تا 28 درجه سانتی‌گراد گزارش شده است (۱۷ و ۳۰). بخشنده و همکاران (۵) نیز دمای مطلوب جوانه‌زنی بذور هندوانه را $27/3$ درجه سانتی‌گراد تخمین زدند. چن و برادفور (۱۴) گزارش کردند که تفاوت در ضرایب مدل حرارتی-رطوبتی حتی در یک گونه گوجه فرنگی بین توده‌های مختلف بذری آن نیز مشاهده می‌شود. بطور مثال درجه حرارت پایه بین توده‌های بذری یک گونه گوجه فرنگی بین $12/5$ تا $13/5$ درجه سانتی‌گراد و در گونه دیگری این اختلاف در حد نیم درجه سانتی‌گراد (۱۳ تا $13/5$) بود. در مدل زمان حرارتی-رطوبتی جوانی‌زنی استفاده شده توسط برخی محققین (۲ و ۲۵) درجه حرارت پایه و زمان حرارتی-رطوبتی مورد نیاز برای جوانه‌زنی ثابت فرض شد، و از طرفی تغییرات پتانسیل آب پایه مطابق توزیع نرمال و ناچیز در نظر گرفته شده است. این روش بمنظور ساده سازی فرایند کمی‌سازی مورد استفاده قرار گرفته است. با این‌وجود تغییرات این ضرایب در پژوهش‌های مختلف برای گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (۲۸ و ۳۹). در صورتی که تغییرات و تنظیمات فرایندهای فیزیولوژیک بذر را در پاسخ به شرایط محیطی بپذیریم، تغییرات ضرایب مدل حرارتی-رطوبتی دور از انتظار نیست، بخصوص که این مدل‌ها بر مبنای فیزیولوژی گیاه طراحی شده‌اند (۳). کمی کردن اثر درجه حرارت و پتانسیل آب در مدل هیدروتایم بذور سیب زمینی (*Solanum tuberosum*)، هویج (*Daucus carota*) و پیاز (*Allium cepa*) نشان داد که پتانسیل آب پایه در درجه حرارت‌های کمتر و بیشتر از حد مطلوب می‌تواند متفاوت باشد (۳۶).

جدول ۵. ضرایب مدل زمان رطوبتی برای پیش‌بینی جوانه‌زنی بذور هندوانه در پاسخ به پتانسیل‌های مختلف آب و در درجه حرارت‌هایی که حداقلی از جوانه‌زنی در آنها ثبت شد.

Table 5. Parameters of the hydro-time model for perdition of watermelon germination at various water potential whitin temperature ranges caused a minimum germination.

دما Temperature (°C)	θ_H (MPa.days)	$\Psi_{b(50)}$ (MPa)	$\sigma_{\Psi b}$ (MPa)	R ²	RMSE
10	-	-	-	-	-
15	5.5	-0.45	0.396	0.93	0.05
20	4.5	-1.18	0.325	0.93	0.09
25	3.5	-1.23	0.374	0.91	0.11
30	3.0	-0.95	0.282	0.88	0.13
35	3.0	-0.51	0.570	0.89	0.08
40	-	-	-	-	-
Overall	13	-0.74	0.543	0.29	0.28



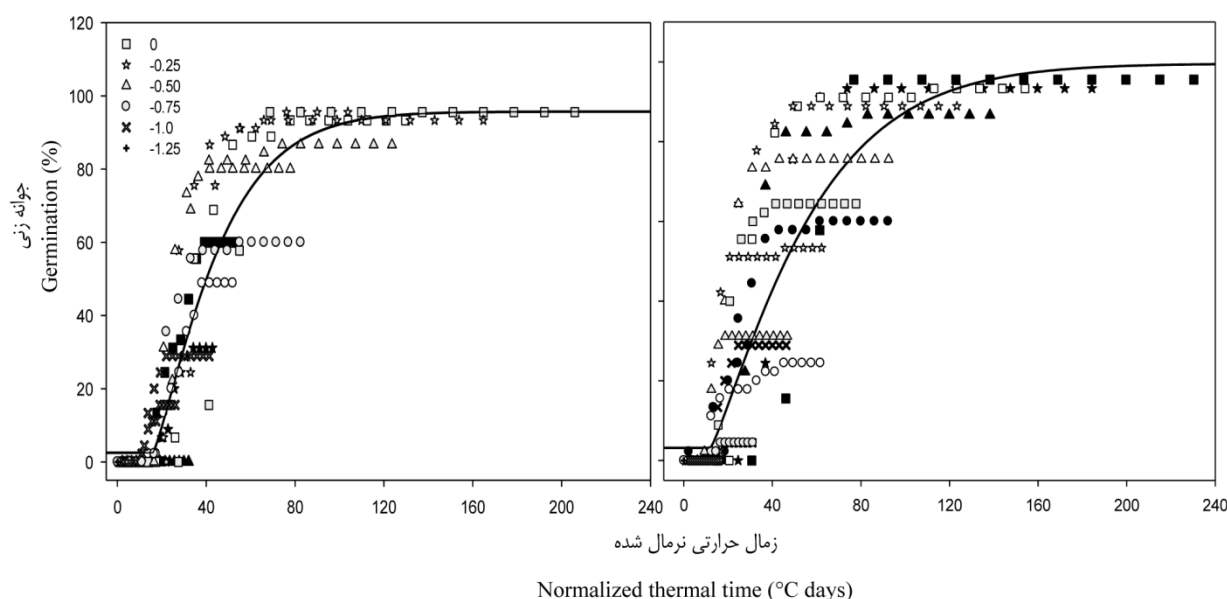
شکل ۴- مقادیر واقعی (نقاط) و شبیه‌سازی شده (خط) پاسخ جوانه‌زنی بذر هندوانه به پتانسیل‌های آب مختلف در درجه‌حرارت‌های ۱۵ (الف)، ۲۰ (ب)، ۲۵ (ج)، ۳۰ (د) و ۳۵ (ه) سانتی‌گراد که در آنها جوانه‌زنی رخ داده بود. مقادیر شبیه‌سازی شده با استفاده از مدل زمان رطوبتی و با توجه به ضرایب نمایش داده شده در جدول ۵ بدست آمد.

Figure 4- The observed (symbols) and predicted (lines) germination percentage of watermelon in response to various water potentials at temperatures of 15 (a), 20 (b), 25 (c), 30 (d) and 35 (e) °C in which germination was occurred. The predicted values obtained by the hydro-time model using the parameters were shown in Table 5.

جدول ۶- ضرایب مدل زمان حرارتی-رطوبتی برای پیش‌بینی جوانه‌زنی بذر هندوانه در پاسخ به دماها و پتانسیل‌های مختلف آب.

Table 6- Parameters of the hydrothermal time model for prediction of watermelon germination at different levels of water potential under suboptimal and supraoptimal temperatures

water potential under subsopimal and suprasopimal temperatures							
دما Temperature (°C)	θ_{HT} (MPa.°C.days)	T_b (°C)		$\Psi_{b(50)}$ (MPa)	$\sigma_{\Psi b}$ (MPa)	R^2	RMSE
15-25	40.5	11.5		-1.13	0.37	0.92	0.10
	θ_{HT} (MPa.°C.days)	T_b (°C)	T_o (°C)	K_T (MPa/°C)	$\Psi_{b(50)}$ (MPa)	$\sigma_{\Psi b}$ (MPa)	R^2 RMSE
25-40	40.5	11.5	25.2	0.09	-1.20	0.37	0.90 0.11



شکل ۵- مقادیر واقعی (نقاط) و شبیه‌سازی شده (خط) پاسخ درصد جوانه‌زنی بذر هندوانه به پتانسیل‌های مختلف آب در دماهای کمتر (نمودار سمت چپ) و بیشتر (نمودار سمت راست) از حد مطلوب. مقادیر شبیه‌سازی شده با استفاده از مدل زمان حرارتی-رطوبتی و با توجه به ضرایب نمایش داده شده در جدول ۶ بدست آمد.

Figure 5- The observed (symbols) and predicted (lines) germination of watermelon in response to different levels of water potential at suboptimal (left) and supraoptimal (right) temperature ranges. The predicted values obtained by the hydrothermal time model using the parameters shown in Table 6.

نتیجه‌گیری کلی

۲۵ درجه سانتیگراد کمتر از سایر دماها بویژه دماهای بالاتر از ۲۵ درجه بود. نتایج نشان داد که مدل زمان حرارتی-رطوبتی یک ابزار مؤثر برای مطالعه جوانه‌زنی در شرایط مختلف و متغیر است، بطوریکه بیش از ۹۰ درصد از تغییرات جوانه‌زنی بذر هندوانه در شرایط مختلف دمایی و رطوبتی توسط این مدل قابل تخمین است. دمای پایه، مطلوب و حداکثر تخمین زده شده توسط مدل زمان حرارتی در شرایط عدم تنش خشکی (پتانسیل آب صفر) و مدل زمان حرارتی-رطوبتی به ترتیب ۱۱/۵، ۲۵/۲ و ۴۰/۱ درجه سانتیگراد بود. مقدار پتانسیل آب پایه برای جوانه‌زنی هندوانه در مدل زمان حرارتی-رطوبتی نیز حدود ۱/۱۳- تا ۱/۲- مگاپاسکال برآورد گردید. با اینحال اگر پویایی تغییرات و تنظیمات فرآیندهای فیزیولوژیک بذر را در پاسخ به شرایط محیطی بپذیریم، بروز درصدی از تغییرات در ضرایب مدل

جوانه‌زنی کامل و سریع بذرها و نهایتاً استقرار یکنواخت گیاهچه‌های قوی لازمه موفقیت تولید محصولات زراعی و باغی در هر منطقه است. نتایج این آزمایش نشان داد که بذور هندوانه در دامنه دمایی بین ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتیگراد بیش از ۹۳ درصد جوانه‌زنی دارد، و دمای کمتر و پایین‌تر از این دامنه حرارتی باعث افت معنی‌دار درصد جوانه‌زنی آن خواهد شد. بطوری که در دمای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتیگراد و بالاتر از ۴۰ درجه سانتیگراد میزان جوانه‌زنی بذور هندوانه به صفر رسید. همچنین نتایج نشان داد که پتانسیل‌های آب کمتر از ۰-۲۵/ مگاپاسکال باعث کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی هندوانه می‌شود. اگرچه تاثیر منفی کاهش پتانسیل آب بر جوانه‌زنی در دمای

پتانسیل جوانه‌زنی هر گونه گیاهی را در هر منطقه‌ای با توجه به شرایط اقلیمی حاکم بر آن فراهم کرده، و از طرفی امکان مطالعه و تخمین اثرات بالقوه گرمایش جهانی بر جوانه‌زنی بذور گیاهان را نیز فراهم خواهد کرد.

حرارتی-رطوبتی در شرایط مختلف محیطی و ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی دور از انتظار نیست. برآورد ضرایب این مدل‌ها، این توانایی را ایجاد می‌کند که میزان جوانه‌زنی گیاه را در شرایط مزرعه و با توجه به عوامل محدود کننده احتمالی تعیین کنیم. همچنین امکان تخمین

منابع

- 1- Akram-Ghaderi F., Soltani A. and Sadeghipour H.R. 2008. Effect of temperature and water potential on germination of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo*. convar. *pepo* var. *styriaca*), black cumin (*Nigella sativa* L.) and borago (*Borago officinalis* L.). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15(5): 157-170. (In Persian)
- 2- Allen P.S., Meyer S.E. and Khan M.A. 2000. Hydrothermal time as a tool in comparative germination studies. p.401-410. In: Black, M., Bradford, K. J., Vazquez-Ramos J. (ed.), Seed biology: Advances and applications, CAB International, Wallingford, UK.
- 3- Alvarado V., and Bradford K.J. 2002. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. Plant, Cell and Environment, 25: 1061-1069.
- 4- Argyris J., Dahal P., Hayashi E., Still D.W., and Bradford K.J. 2008. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. Plant Physiology 148: 926-947.
- 5- Bakhshandeh E., Atashi S., Hafeznia M., Pirdashti H., and Teixeira da Silva J. A. 2015. Hydrothermal time analysis of watermelon (*Citrullus vulgaris* cv. 'Crimson sweet') seed germination. Acta Physiologiae Plantarum, 37: 1737-1743.
- 6- Baskin C.C., and Baskin J. M. 2014. Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination (2nd ed). Elsevier/Academic Press, San Diego, California, USA.
- 7- Bloomberg M., Sedcole J.R., Mason E.G., and Buchan G. 2009. Hydrothermal time germination models for radiata pine (*Pinus radiata* D.Don). Seed Science Research, 19: 171-182.
- 8- Bochet E., García-fayos P., Alborch B., and Tormo J. 2007. Soil water availability effects on seed germination account for species segregation in semiarid roadslopes. Plant and Soil, 295: 179 – 191.
- 9- Boddy L.G., Bradford K.J., and Fischer A.J. 2012. Population-based threshold models describe weed germination and emergence patterns across varying temperature, moisture and oxygen conditions. Journal of Applied Ecology, 49: 1225-1236.
- 10- Boroumand-Rezazadeh Z., and Koocheki A. 2006. Evaluation of cardinal temperature for three species of medicinal plants, Ajowan (*Trachyspermum ammi*), Fennel (*Foeniculum vulgare*) and Dill (*Anethum graveolens*). BIABAN (Desert Journal), 11, 11-16. (In Persian)
- 11- Bradford K.J. 1995. Water relations in seed germination. P.351-396. In: Kigel, J., Galili, G. (ed.), Seed Development and Germination. Marcel Dekker, New York,
- 12- Bradford K.J. 2002. Application of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. Weed Science, 50: 248-260.
- 13- Cave R.L., Birch C.J., Hammer G.L., Erwin J.E., and Johnston, M.E. 2011. Cardinal temperatures and thermal time for seed germination of *brunonia australis* (Goodeniaceae) and *calandrinia* sp. (Portulacaceae). HortScience, 46: 753-758.
- 14- Cheng Z., and Bradford, K.J. 1999. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination responses to priming treatments. Journal of Experimental Botany, 50: 89-99.
- 15- Chantre G.R., Batlla D., Sabbatini M.R., and Orioli, G. 2009. Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. Annals of Botany, 103: 1291-1301.
- 16- Dahal P. and Bradford K.J. 1994. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduced water potential. Seed Science Research 4: 71-80.
- 17- Demir I., and Mavi K. 2004. The effect of priming on seedling emergence of differentially matured watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) seeds. Scientia Horticulturae, 102: 467-473.
- 18- Ellis R.H., Covell S., Roberts E.H. and Summerfield R.J. 1986. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. II. Intraspecific variation in chickpea at constant temperatures. Journal of Experimental Botany, 37: 1503-1515.
- 19- Ertan, S.K. 2010. Modelling the effect of temperature on seed germination in some cucurbits. African Journal of Biotechnology, 9: 1343-1353.
- 20- Fenner M., and Thompson K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge University Press, Edinburgh House, Cambridge. 250 p.
- 21- Fernandez G., and Johnston M. 1995. Seed vigor testing in lentil, bean, and chickpea. Seed Science and Technology, 23: 617-627.

- 22- Finney D.J. 1971. Probit analysis. Third edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- 23- Gareca E.E., Vandeloof F., Fernández M., Hermy M., Honnay O., Hermy M., and Honnay, O. 2012. Seed germination, hydrothermal time models and the effects of global warming on a threatened high Andean tree species. *Seed Science Research*, 22: 287–298.
- 24- Grundy A.C., Phelps K., Reader R.J., and Burston S. 2000. Modelling the germination of *Stellaria media* using the concept of hydrothermal time. *New Phytologist*, 148: 433–444.
- 25- Gummerson R.J. 1986. The effect of constant temperatures and osmotic potential on the germination of sugarbeet. *Journal of Experimental Botany*, 37:729–741.
- 26- Hasandokht M.R. 2012. *Vegetables Production Technology*. Selsele Press. Tehran. Iran. (in Persian)
- 27- Holt, J.S. and D.R. Orcutt. 1996. Temperature thresholds for bud sprouting in perennial weeds and seed germination in cotton. *Weed Science*. 44:523–533.
- 28- Kebreab E., and Murdoch A.J. 1999. Modelling the effects of water stress and temperature on germination rate of *Orobanchae aegyptiaca* seeds. *Journal of Experimental Botany*, 50): 655–664.
- 29- Kebreab E., and Murdoch A.J. 2000. The effect of water stress on the temperature germination rate of *Orobanchae aegyptiaca* seeds. *Journal of Experimental Botany*, 50): 655-664.
- 30- Kurtar E.S. 2010. Modelling the effect of temperature on seed germination in some cucurbits. *African Journal of Biotechnology*, 9: 1343–1353.
- 31- Larsen S.U., Bailly C., Côme D., and Corbineau F. 2004. Use of the hydrothermal time model to analyse interacting effects of water and temperature on germination of three grass species. *Seed Science Research*, 14: 35-50.
- 32- Michel B.E. and Kaufmann M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51: 914–916.
- 33- National Agriculture Statistics. 2017. Ministry of Jihad-Agriculture. Information and Communication Technology Center. Pp 116.
- 34- Ni B.R., and Bradford K.J. 1992. Quantitative models characterizing seed germination responses to abscisic acid and osmoticum. *Plant Physiology*, 98: 1057–1068.
- 35- Nozari-nejad M., Zeinali E., Soltani A., Soltani E., and Kamkar, B. 2013. Quantify wheat germination rate response to temperature and water potential. *Journal of Crop production*, 6: 117-135. (in Persian with English abstract)
- 36- Rowse H.R., and Finch-Savage, W.E. 2003. Hydrothermal threshold models can describe the germination response of carrot (*Daucus carota*) and onion (*Allium cepa*) seed populations across both sub- and supra-optimal temperatures. *New Phytologist*, 158: 101–108.
- 37- Singh S., Singh P., Sanders D.C., and Wehner, T. C. 2001. Germination of watermelon seeds at low temperature. *Report-Cucurbit Genetics Cooperative*, 24: 59–64.
- 38- Steinmaus S.J., Timonthy S.P. and Jodie S.H. 2000. Estimation of base temperature for nine weed species. *Journal of Experimental Botany*, 51: 275– 286.
- 39- Wang R., Bai Y., and Tanino, K. 2005. Germination of winterfat (*Eurotia lanata* Moq.) seeds at reduced water potentials: testing assumptions of hydrothermal time model. *Environmental and Experimental Botany*, 53: 49–63.
- 40- Wen-Hu X., Fan Y., Baskin C. C., Baskin J.M., and Wang Y.R. 2015. Comparison of the effects of temperature and water potential on seed germination of Fabaceae species from desert and Subalpine grassland. *American Journal of Botany* 102: 649 – 660.



Simulation of Germination Response of Watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) to Temperature and Water Potential

S.F. Saberali^{1*}- H. Nastari Nasrabadi²- Z. Shirmohamadi Ali AkbarKhani³

Received: 29-05-2019

Accepted: 05-11-2019

Introduction: A rapid, complete, and uniform seed germination is important to establish a healthy seedling that is a critical key to successful crop production. Therefore, identification of effective factors on germination and plant response to various conditions are important to use an appropriate agronomic managements. Temperature and water are the most important environmental factors controlling seed germination in plants. The crop growth models are among the most effective tools for using in crop management decisions. The response of seed germination to temperature and water potential can be simulated by thermal time, hydrotime and hydrothermal time models. Regarding the importance of watermelon production in Iran, this study was conducted to determine the cardinal temperatures of germination in watermelon plant, and also to quantify its germination in response to the temperature and water potential interaction. .

Materials and Methods: In order to investigate the effects of temperature and drought stress on seed germination and quantifying the germination responses; a factorial experiment was conducted with seven levels of temperature including 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 °C and the six levels of water potential including 0, -0.25, -0.5, -0.75, -1.0, and -1.25 MPa, respectively. A Ψ of 0 MPa was obtained using distilled water. The negative Ψ levels were prepared by polyethylene glycol (PEG 6000; Merck, Germany) according to Michel and Kaufman (1973). For each treatment, four 25-seed replicates were placed in 9-cm petri dishes containing one disk of Whatman No. 1 filter paper, with 7 mL of test solutions. Cumulative germination percentage was transformed to probit regression against time log (Finney, 1971; Steinmaus et al., 2000), and the time taken for cumulative germination (t_g) to reach subpopulation percentiles (10–90%) was estimated from this function according to Steinmaus et al. (2000). Then the germination rates (GR) were calculated as the inverses of the germination times for each percentile at each T or Ψ . The preliminary estimation of the parameters in the TT, and HT models were obtained by plotting GR versus T and Ψ for each percentile. Then using repeated probit analysis developed by Ellis et al. (1986), the exact parameters for the TT, HT and HTT models were determined for the whole seed population. All statistical procedure were done by SAS and Excel software, and the figures were drawn by SigmaPlot10 software.

Result and Discussion: The analysis of variance showed that the temperature, water potential and their interaction had significant effect on the germination percentage of the watermelon plant. Seed germination of watermelon was about 96 % under the optimal conditions. However, the germination ability was affected by the temperature and water potential of the seedbed. The results showed that the germination was decreased by decreasing water potential, at all temperature levels. The seeds of watermelon germinated over a range of water potentials from 0 to -1 MPa. Furthermore, the lowest germination loss associated with decreasing water potential observed at temperature range of 20-30 °C (compared to temperatures below and above this range). The maximum percentage of germination was recorded at 20-30 °C, while no seeds germinated at 10 and 40 °C. The results also showed that the highest germination rate was obtained at 25 °C and the germination rate decreased at lower and higher temperature than this range. While watermelon seeds were grown under no water stress condition, the estimated base and ceiling temperatures of germination by a linear regression method were 10.7 and 40.0 °C, respectively. However thermal time model was used, but the base and the maximum temperatures were estimated as 11.5 and 40.1 °C, respectively. Furthermore, an optimum temperature of 25.2 °C was predicted by hydrothermal time model for watermelon germination. The results showed that the base temperature and median thermal time to germination were varied with changing water potential. The hydrotime analysis showed that the base water potentials was in a range from -0.45 to -1.23 Mpa, that differed with changing water potential. Watermelon seeds had higher base water potential and also required a longer hydrotime for

1 and 2- Assistant Professors, Department of Horticulture Science and Engineering, High Educational Complex of Torbat-e Jam

(*Correspondin Author Email: sf.saberali@yahoo.com)

3 - Assistant Professor, Department of Water Science and Eengineering, High Educational Complex of Torbat-e Jam

germination under non-optimal temperature. Hydrothermal time analysis showed that seed germination responses to temperature and water potential might as well quantified by parameters derived from hydrothermal time models ($R^2= 0.90-0.92$). The amount of hydrothermal time required to germinate was 40.5 MPa °C days on the suboptimal and supra optimal temperature ranges. The HTT model showed that the $\Psi_b(50)$ increased by 0.09 MPa with every degree increase in temperature above optimum temperature.

Conclusions: The thermal time, hydrottime and hydrothermal time models well described germination time course of watermelon seeds in response to temperature and water potential. Thus, the estimated parameters of these germination models allowed us to characterize the germination behavior of watermelon seeds under varying environmental conditions and global warming.

Keywords: Base water potential, Hydrothermal time model, Probit analysis, Water stress.



تعیین مهمترین عوامل موثر بر عملکرد باغات زیتون شمال ایران

علی آجیلی لاهیجی^۱ - علی محمدی ترکاشوند^{۲*} - عبدالمحمد محنت کش^۳ - میرناصر نویدی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۱

چکیده

یکی از روش‌های نوین در ارزیابی اراضی نسبت به کاربری‌های مختلف، مدل‌سازی یا شبیه‌سازی کاربری مورد نظر است. با توجه به اهمیت عوامل موثر بر عملکرد باغات زیتون کشور، این ارزیابی در شمال ایران در بیش از ۸۰ باغ زیتون شهرستان رودبار استان گیلان که مهمترین باغات زیتون کشور واقع شده است با استفاده از مدل شبکه عصبی مصنوعی انجام شد. عملکرد محصول باغات زیتون تحت تاثیر عوامل مختلف خاکی، آبی، توپوگرافی و اقلیمی می‌باشند، که در مجموع بیست و هشت عامل موثر بر عملکرد زیتون انتخاب و به عنوان متغیرهای ورودی مدل انتخاب شدند. این متغیرها عبارت بودند از خصوصیات خاک شامل EC، میزان مواد خنثی شونده (TNV)، درصد کربن آلی، فسفر قابل جذب، پتاسیم قابل جذب، درصد رس و درصد سیلت، خصوصیات آب آبیاری شامل EC و میزان آب آبیاری، خصوصیات توپوگرافی شامل ارتفاع و شیب، غلظت عناصر غذایی در برگ شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و روی، عوامل اقلیمی شامل ساعات آفتابی، میزان تبخیر، میزان متوسط دما به عنوان متغیرهای ورودی و عملکرد محصول به عنوان خروجی مدل‌های شبکه عصبی مصنوعی در نظر گرفته شد. نمونه‌های خاک، آب و برگ از باغات به طور همزمان در مرداد ماه جمع آوری شده و عوامل توپوگرافی از طریق میان‌یابی در محیط GIS و با استفاده از نرم‌افزار ArcGIS بدست آمد و اطلاعات مربوط به عوامل اقلیمی نیز از ایستگاه‌های هواشناسی منطقه و روش میان‌یابی بدست آمد. پس از تعیین بهترین ساختار شبکه عصبی با میزان R آزمون ۸۰ درصد، به کمک آنالیز حساسیت به روش Hill، عکس‌العمل مدل به هر یک از متغیرهای ورودی بررسی و مهمترین فاکتورهای تأثیرگذار بر عملکرد محصول زیتون به دست آمد. بر اساس نتایج آنالیز حساسیت، مهم‌ترین پارامترهای مؤثر در عملکرد محصول زیتون، به ترتیب نیتروژن برگ، فسفر خاک، تبخیر زمستان، تبخیر تابستان، میانگین دمای پاییز، ساعات آفتابی تابستان، میزان پتاسیم برگ، شوری خاک، شوری آب و شیب می‌باشند. که به طور خلاصه می‌توان به الویت تامین عناصر غذایی ماکرو المنت مانند نیتروژن و فسفر و تامین رطوبت مورد نیاز با توجه به تبخیر منطقه حتی در فصل زمستان برای باغداران تاکید نمود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز حساسیت، زیتون، شبکه عصبی مصنوعی، گیلان، مدل سازی

مقدمه

این گیاه برای تمام کشورهایی که در عرض‌های ۳۰-۴۵ درجه قرار دارند مناسب می‌باشد (۴۷). مصرف سرانه روغن زیتون در جهان ۵۰۰ گرم، در یونان ۲۰ کیلوگرم، در بعضی از کشورهای اروپایی ۱۰ کیلوگرم و در ایران ۱۵۰ گرم می‌باشد، اما سرانه مصرف کنسرو آن در جهان ۳۰۰ گرم و در ایران حدود ۶۰۰ گرم، که حدود دو برابر می‌باشد. کشت زیتون امروزه در اغلب نقاط جهان به سرعت در حال افزایش است، به طوری که هم اکنون برنامه توسعه آن در کشورهایی مانند چین که هیچگونه سابقه زیتون‌کاری نداشته‌اند نیز در دست اجراست. سطح زیر کشت باغ‌های زیتون جهان بر اساس آمارهای به دست آمده شورای بین‌المللی زیتون (۶۱)، بیش از ۱۰ میلیون هکتار بوده و ایران با ۱۱۰۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت مرتبه شانزدهم را در بین کشورهای تولید کننده زیتون داراست، همچنین میزان تولید میوه زیتون در جهان ۱۸ میلیون تن در سال گزارش شده که ایران با تولید

زیتون (*Olea europaea* L.) در حال حاضر به عنوان یکی از منابع اصلی تامین کننده چربی‌ها در تغذیه انسان در بسیاری از کشورهای اروپایی به ویژه در حوزه دریای مدیترانه محسوب می‌شود.

۱ و ۲- دانشجوی دکتری خاکشناسی و دانشیار گروه علوم خاک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(*-نویسنده مسئول: Email: m.torkashvand54@yahoo.com)

۳- استادیار بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

۴- استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.82069

۱۰۲ هزار تن میوه نیز در رتبه شانزدهم قرار گرفته است (۲۳). تولید میوه زیتون در ایران از ۷۶۸۴ تن به حدود ۱۰۲ هزار تن و سطح زیر کشت آن از ۵۶۲۰ هکتار به حدود ۸۴۰۰۰ هکتار در سال ۱۳۹۴ تغییر یافته است که از این مقدار ۵۰۰۰۰ هکتار بارآور و ما بقی غیر بارآور هستند. تعداد استان‌های تولیدکننده زیتون کشور ۲۷ استان که به ترتیب شامل گیلان، زنجان، قزوین، گلستان، فارس، سمنان و کرمانشاه هستند. ۴۵ درصد سطح باغات زیتون کشور در سه استان گیلان، قزوین و زنجان واقع است که سالانه حدود ۶۰ هزار تن زیتون از آن برداشت می‌شود که بخشی از آن صرف تولید روغن خوراکی و بخش دیگر تولید کنسرو زیتون می‌شود (۵). افزایش سطح توسعه باغ-های زیتون جهان بیانگر اراده کشورهای زیتون‌خیز برای توسعه باغ-های جدید به صورت مستمر می‌باشد. درخت زیتون نقش مهمی در توسعه روستایی مناطق به‌ویژه در مناطق مدیترانه‌ای ایفاء می‌نماید (۲۰). اهمیت باغات سنتی زیتون بسیار برای محیط زیست مهم می‌باشد چرا که آنها به حفاظت خاک و تنوع گونه‌ای کمک بسیار می‌نمایند (۱۶). عملکرد درختان زیتون تحت تاثیر عوامل اقلیمی قبل از گلدهی و در طول دوره رشد مثل کمبود آب، افزایش دما، بیماری‌های گیاهی می‌باشد، که این عوامل در عملکرد زیتون نقش مهمی ایفاء می‌نمایند (۱۸، ۴۲ و ۴۳).

وضعیت کلی بهره‌وری باغات زیتون در سراسر جهان رضایت بخش نیست. حدود ۷۰ درصد باغ‌های زیتون سنتی و حاشیه‌ای به دلیل عدم مدیریت مناسب باغ‌ها با بهره‌وری متوسط تا بسیار پایین برخوردار هستند. باغ‌های فشرده جدید (حدود ۳۰ درصد از کل باغات) بازده مناسبی دارند، اما اغلب با اثرات زیست محیطی منفی همراه هستند (۶۳ و ۳۴). برای افزایش بهره‌وری در اراضی کشاورزی لازم است تناسب اراضی برای هر نوع کاربری، قبل از استفاده از اراضی تعیین گردد. به عبارتی بهترین روش به منظور استفاده صحیح از اراضی موجود، ارزیابی توان تولید آن‌ها در کاربری‌های مختلف و اختصاص اراضی به بهترین کاربری است. روش‌های نوین ارزیابی اراضی شامل روش‌های مختلف مدل‌سازی است، تا با استفاده از تکنیک‌هایی توانایی مدل‌ها را در تعیین ارتباط بین خصوصیات اراضی و عملکرد آزمون نمایند (۳۰). یک مدل شکل ساده شده‌ای از واقعیت است که بعد از ایجاد آن می‌توان بدون اندازه‌گیری و آزمایش، رفتار یک پدیده را پیش‌بینی کرد. این مدل‌های شبیه‌ساز به صورت‌های مختلف عمل کرده و انواع مختلف از جمله مدل‌های تجربی، آماری، دینامیک و هوشمند دارند. در تدوین برنامه‌های مدیریتی (کاشت، داشت، برداشت)، مدل‌سازی ریاضی به عنوان فرایندی برای پیش‌بینی عملکرد محصول مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵۵). تاکنون، روش‌های زیادی برای تخمین عملکرد در کشاورزی به کار گرفته شده است (۶۷، ۱۵ و ۲۸). برخی از پژوهشگران، از همبستگی ساده خطی استفاده و

رابطه عملکرد با متغیرهایی نظیر ویژگی‌های خاک را بررسی و نتایج مختلفی ارائه نموده‌اند (۱۳ و ۵۱). بسیاری از پژوهشگران دیگر، با روش‌های رگرسیون چندمتغیره خطی به برآورد عملکرد پرداخته‌اند (۲۷). در برخی از پژوهش‌ها نیز روش‌های آماری غیرخطی برای این منظور، مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۵، ۸، ۳۶ و ۳۷). مهمترین مدل‌های برآوردکننده، توابع انتقالی شامل مدل‌های رگرسیونی و شبکه‌های عصبی مصنوعی هستند. شبکه‌های عصبی مصنوعی یکی از روش‌های مدل‌سازی هستند که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققین در علوم مختلف واقع شده است. این تکنیک هوشمند در چند سال اخیر کاربردهای مناسبی در علوم زیست محیطی، مهندسی و کشاورزی به خود اختصاص داده است. در سال‌های اخیر، استفاده از شبکه‌های عصبی مصنوعی اجازه می‌دهد تجزیه و تحلیل بهتر نسبت به روش‌های کلاسیک آماری در صنعت کشاورزی ارائه گردد (۶۲). شبکه‌های عصبی مصنوعی با الهام‌گیری از مدل مغز انسان، ضمن اجرای فرآیند آموزش، اطلاعات مربوط به داده‌ها را پردازش و در درون وزن‌های شبکه ذخیره می‌نمایند. با استفاده از روش شبکه‌های عصبی مصنوعی مناسب و انتخاب صحیح وزن‌ها و توابع فعال‌ساز می‌توان روابط خطی و عمدتاً غیر خطی حاکم بر پدیده‌ها را شبیه‌سازی نمود (۳۲). یک شبکه عصبی یک مکانیزم محاسباتی است که قادر است در یک فضای چند متغیره از اطلاعات، که به صورت یک مجموعه داده به آن ارائه می‌گردد، کاوش نماید، محاسبه کند و یک نقشه ارائه کند. یک شبکه عصبی ضمن آموزش، قادر است ظریف‌ترین روابطی که توسط روش‌های معمول امکان دسترسی به آن نیست را مورد شناسائی قرار داده و استخراج کند. برای یک بار که مرحله یادگیری و آزمون شبکه با موفقیت انجام گیرد، الگوریتم ایجاد شده می‌تواند به آسانی برای کاربرد عملی مورد استفاده قرار گیرد (۲۴).

پژوهش‌های گسترده‌ای در سیستم‌های کشاورزی برای برآورد محصول با استفاده از شبکه عصبی انجام شده که برخی از آنها شامل: ایوبی و همکاران (۷) در پیش‌بینی عملکرد گندم دیم، وانگ و همکاران (۶۸) در پیش‌بینی عملکرد سویا در مزارع کشور چین، نوروزی (۳۸) در پیش‌بینی عملکرد گندم دیم، نیازیان و همکاران (۳۷) به منظور پیش‌بینی عملکرد گیاه دارویی زنبان، می‌باشند. توبلیه و همکاران (۶۴) در مدل‌سازی عملکرد زیتون با استفاده از رگرسیون چند گانه، و بررسی وضعیت تغذیه‌ای زیتون گزارش نمودند که خاک و خصوصیات زمین از یک طرف و تغذیه درختان از طرف دیگر بیشترین تاثیر را بر عملکرد داشته و در بررسی ارتباط عناصر غذایی خاک با عملکرد، پتاسیم کل خاک، میزبان ازت خاک و عمق خاک بیشترین همبستگی را با عملکرد زیتون داشته‌اند. پتاسیم خاک و عمق خاک ۷۷ درصد تغییرات عملکرد را توجیه نمودند و این دو عامل بعلاوه آهن و بُر برگ ۸۳ درصد تغییرات عملکرد را در مدل‌سازی

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه در استان گیلان و در بخش مرکزی شهرستان رودبار شامل دهستان‌های رستم آباد، رودبار، منجیل و لوشان واقع شده که از مناطق اصلی تولید کننده زیتون کشور می‌باشد. محدوده مورد مطالعه در منطقه‌ای به وسعت ۲۰۰ کیلومتر مربع، از طول جغرافیایی $49^{\circ}28'55''$ شرقی و عرض جغرافیایی $36^{\circ}55'11''$ شمالی تا $49^{\circ}33'21''$ شرقی و $36^{\circ}36'39''$ شمالی را شامل می‌شود. براساس آمار هواشناسی، این منطقه دارای اقلیم‌های متفاوت از مرطوب به فراخشک بوده که به ترتیب از رستم آباد، رودبار، منجیل تا لوشان تغییر می‌نماید. دمای هوا در منطقه منجیل کمتر از لوشان بوده ولی شدت باد آن بیشتر و حدود ۳۵ کیلومتر بر ساعت با تاخیر ۲۳۷۰ میلیمتر در سال می‌باشد، اما منطقه لوشان حدود ۲۰۰ میلیمتر بارندگی با هوای بسیار گرمتر نسبت منجیل را دارا است. رودبار دارای میانگین بارندگی ۴۱۲ میلیمتر در سال و میانگین دمای پایین‌تر از لوشان و منجیل که تا رستم‌آباد بر میزان بارندگی اضافه و از میزان ساعات آفتابی آن کاسته می‌شود.

برای مدل‌سازی شبکه عصبی مصنوعی نیاز به متغیرهای ورودی و متغیر خروجی است. متغیرهای ورودی در این تحقیق شامل ۵ گروه اصلی بود که داده‌های اقلیمی شامل: ساعات آفتابی، میزان تبخیر، میزان متوسط دما در هر فصل؛ خصوصیات خاکی شامل: EC، میزان مواد خنثی‌شونده (TNV)، درصد کربن آلی، فسفر قابل جذب، پتاسیم قابل جذب، درصد رس و درصد سیلت؛ خصوصیات آب آبیاری شامل: EC و میزان آب آبیاری؛ خصوصیات توپوگرافی شامل: ارتفاع و شیب و خصوصیات عناصر غذایی برگری شامل: نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن و روی که مجموعاً ۲۸ متغیر به عنوان ورودی‌های مدل و عملکرد محصول زیتون در سال زراعی ۹۶-۹۷ به عنوان خروجی مدل به کار گرفته شد. بخشی از داده‌های هواشناسی از طریق آمار بلندمدت ایستگاه‌های هواشناسی موجود شامل ایستگاه سینوپتیک منجیل و ایستگاه رودبار و بخش دیگر برای مناطق لوشان و رستم آباد از طریق روش‌های درون‌یابی با روش IDW^1 بوسیله نرم‌افزار ArcGIS نسخه ۱۰/۳ تهیه گردید. تلاش گردید که از کل محدوده کشت زیتون در منطقه مطالعاتی از رستم‌آباد تا لوشان نمونه‌برداری شود و نهایتاً ۸۶ باغ به طور تصادفی انتخاب و مورد ارزیابی و نمونه برداری قرار گرفت (شکل ۱). سپس نسبت به ثبت مختصات جغرافیایی مکان‌های نمونه‌برداری شده توسط سیستم مکان‌یابی جهانی (GPS) اقدام گردید. برای تعیین ویژگی‌های زمین (ارتفاع و شیب نقاط) در منطقه مورد مطالعه، از یک لایه مدل رقومی ارتفاع (DEM) با قدرت تفکیک ۳۰ متر که توسط سازمان نقشه برداری کشور تهیه شده و

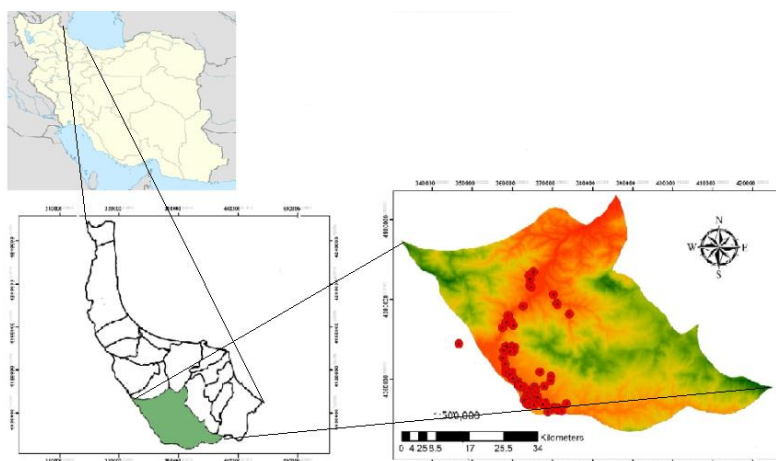
توجیه نمودند. آگرلرا و والنزولا (۱) در پیش بینی عملکرد زیتون تحت تاثیر عوامل بیواقلیمی عنوان نمودند که دقت مدل‌های رگرسیونی بین ۸۳ تا ۹۳ درصد بوده و با استفاده از این مدل‌های پیش‌بینی، عوامل اصلی مؤثر بر عملکرد محصول زیتون مشخص شد. شاخص گرده افشانی و بارش تجمعی، به ویژه باران در طول دوره ثبت شده در ماه‌های قبل از گلدهی، مهم‌ترین پارامترهای مؤثر بر عملکرد زیتون بودند. میزان دمای ثبت شده در طول دو ماه قبل از جوانه زدن متغیر مهم دیگری بود، که اثرات مثبت بر عملکرد نشان داد.

شناخت مهم‌ترین پارامترهای ورودی به مدل‌های پیش‌بینی که عوامل مؤثر در عملکرد نیز محسوب می‌گردند، از اهمیت شایانی برخوردار است. از طریق فرآیند آنالیز حساسیت می‌توان اطلاعات ارزشمندی درباره میزان حساسیت مدل به متغیرهای ورودی آن در اختیار طراح و معمار مدل قرار داد (۳۸). آنالیز حساسیت مدل، مشخص می‌کند که خروجی مدل تا چه اندازه تحت تاثیر هر کدام از ورودی‌های مدل بوده و به ازای تغییر یک واحد در هر کدام از ورودی‌ها، خروجی مدل چه مقدار تغییر خواهد کرد. عملکرد گیاهی بستگی به تعداد زیادی از عوامل دارد که اغلب به طور مستقیم و یا غیر مستقیم بر عملکرد یک گیاه تاثیر می‌گذارد، عوامل خاکی مانند pH، نوع و میزان ماده آلی، سطح مواد مغذی و عوامل اقلیمی مانند: دمای هوا، بارش و همچنین نوع گیاهان و تکنولوژی‌های برداشت را می‌توان بیشتر مورد توجه قرار داد (۲۶ و ۶۵). باقر زاده و همکاران (۹) در ارزیابی کیفی زمین براساس مدل فائو ۱۹۸۵ و ۱۹۸۳ و مدل سائیز و همکاران (۵۸) و وانگ و یون (۶۸) با استفاده از مدل‌های شبیه‌سازی شبکه‌های عصبی و فازی برای محصول سویا عنوان نمودند که بیشترین عامل محدود کننده برای کشت سویا در منطقه مطالعاتی، خواص حاصلخیزی خاک بوده است. شیردلی و توسلی (۵۳) با پیش‌بینی عملکرد و کارایی مصرف آب زعفران با استفاده از مدل شبکه عصبی نشان دادند که عملکرد و کارایی مصرف آب محصول زعفران، بیشترین حساسیت را به عامل آبیاری، سپس بارندگی و در نهایت ساعات آفتابی دارد.

از آنجا که پیش‌بینی عملکرد زیتون با استفاده از مدل‌های نوین، روشی برای ارزیابی اراضی تحت کشت این گیاه و همچنین اراضی مورد نظر برای اختصاص به کشت این گیاه می‌باشد، و همچنین تعیین عوامل موثر بر عملکرد باغات زیتون کشور برای مدیران و تصمیم گیران و کارشناسان بخش کشاورزی به لحاظ شناخت عوامل مؤثر مثبت و منفی در عملکرد، بسیار مهم می‌باشد، این تحقیق با هدف پاسخ‌گوئی به این نیاز برای اولین بار در کشور و حتی در دنیا با این روش انجام گردید.

همزمان نمونه آب و نمونه برگ نیز از باغات منطقه نیز تهیه و هدایت الکتریکی نمونه‌های آب اندازه‌گیری شد. در مرداد ماه در هر باغ نمونه‌های برگ از ۳۰ درخت و از چهار طرف هر درخت زیتون (مجموعاً حدود ۱۰۰ برگ) نمونه‌برداری گردید. نمونه‌ها پس از شستشو با آب مقطر در آن در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد خشک، سپس آسیاب و از الک ۰/۵ میلیمتری عبور داده شدند و آنالیزهای مربوطه شامل نیتروژن به روش کج‌لدال، فسفر به روش اسپکتروفتومتری با تولید رنگ زرد، پتاسیم به روش فلیم فتومتری و عناصر میکرو با استفاده از دستگاه جذب اتمی THERMOELEMENTAL اندازه‌گیری گردید. سپس در اواخر شهریور در زمان برداشت، عملکرد محصول باغات زیتون بر اساس متوسط عملکرد کل ۱۰ درخت که از آن نمونه مرکب برگ تهیه شده نیز تعیین و ثبت گردید.

موقعیت هندسی هر نقطه ارتفاعی را در فرمتی رستری ارائه می‌کند، استفاده شد. برای تعیین خصوصیات خاک در هر باغ زیتون انتخابی از عمق فعالیت ریشه (۳۰-۶۰ cm) نمونه برداری مرکب از خاک بعمل آمد. بعد از هواخشک شدن نمونه‌ها و عبور از الک ۲ میلیمتری، اندازه‌گیری خصوصیات خاک با روش‌های استاندارد انجام گردید. درصد رس، سیلت و شن به روش هیدرومتری تعیین گردید (۱۹). میزان کربن آلی خاک طبق روش والکی بلک (۶۶) تعیین شد. غلظت فسفر قابل جذب به روش اولسن (۳۹) و غلظت پتاسیم قابل جذب با به کارگیری روش استات آمونیوم ۱ نرمال به عنوان عصاره‌گیر (۴۴) تعیین گردید. میزان کربنات کلسیم معادل به روش خشی کردن مواد خشی شونده با اسید کلریدریک و سپس تیتراسیون اسید اضافی با سود تعیین شد (۴۰). واکنش خاک در گل اشباع و با استفاده از الکتروود pH متر دستگاه metrohm و هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک توسط دستگاه هدایت سنج الکتریکی jenway اندازه‌گیری شد.



شکل ۱ - موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه
Figure 1-Geographical location of the studied area

در این تحقیق، ساختار شبکه پیش‌خور پس‌انتشار برای توسعه مدل-های پیش‌بینی عملکرد مورد استفاده قرار گرفت. در مدل‌سازی توسط شبکه عصبی مصنوعی داده‌های ورودی در ۵ گروه شامل ویژگی‌های توپوگرافی، عناصر اقلیمی، خصوصیات خاک، آب و برگ، و در کل ۲۸ پارامتر، به عنوان داده‌های ورودی و عملکرد زیتون به عنوان داده‌های هدف یا خروجی مورد استفاده قرار گرفتند. این مجموعه داده‌ها به طور تصادفی تقسیم گردید به طوری که ۷۰، ۱۵ و ۱۵ درصد از آنها به ترتیب برای آموزش شبکه^۱، تایید^۲ و آزمون^۳ مورد استفاده قرار گرفت. فرآیند آموزش با استفاده از روش انتشار به عقب در دو مرحله

مدلسازی شبکه عصبی مصنوعی

در ابتدا به منظور هم ارزش شدن داده‌ها، پس از به دست آوردن مقادیر اقلیم، خصوصیات خاک، آب، ویژگی‌های توپوگرافی و نتایج تجزیه برگ و همچنین مقادیر عملکرد محصول زیتون، این مقادیر با استفاده از معادله (۱) استاندارد شدند:

$$Xs = (((X_i - X_{mean}) / (X_{max} - X_{min})) \times 0.5) + 0.5 \quad (1)$$

که در این رابطه:

Xs : مقدار استاندارد شده، X_i : مقدار واقعی، X_{mean} : متوسط مقادیر، X_{max} : مقدار حداکثر، X_{min} : مقدار حداقل.

قبل از طراحی شبکه‌های عصبی باید داده‌های مورد نیاز برای آموزش شبکه آماده گردد. برای طراحی ساختار شبکه عصبی مصنوعی، از بسته نرم افزاری (MATLAB, 2019) استفاده گردید.

- 1- Training
- 2- Validation
- 3- Testing

بیشینه ضریب حساسیت نسبی برابر یک خواهد بود. در این روش هر متغیری که دارای ضریب حساسیت بالاتر از ۰/۱ باشد به عنوان متغیر مهم و متغیری که دارای بیشترین ضریب حساسیت نسبی باشد، به عنوان مهم‌ترین متغیر و به همین ترتیب متغیرهای با ضریب حساسیت نسبی کم‌تر متغیرهای در درجات بعدی اهمیت محسوب می‌شوند. با این روش ده متغیر مؤثرتر در تولید و عملکرد محصول زیتون با ضریب حساسیت نسبی بالاتر تعیین گردید.

نتایج و بحث

به منظور مدل سازی عملکرد باغات زیتون با استفاده از نرم افزار MATLAB، بهترین ساختار شبکه عصبی مصنوعی پس از اجرای برنامه و با تکرار زیاد به دست آمد. ساختار این شبکه با ۲۸ نرون ورودی با یک لایه پنهان و ۳۸ نرون مخفی در این لایه و تابع محرک تانژانت سیگموئید کمترین مقدار خطا و بالاترین همبستگی را در روند آموزش شبکه ($R=1$)، اعتبارسنجی ($R=0.16$) و آزمون ($R=0.79$) مدل ایجاد نمود (جدول ۱).

شکل (۳) همبستگی مقادیر استاندارد شده‌ی پیش‌بینی شده به‌دست آمده از این مدل را در مقابل داده‌های استاندارد شده‌ی مشاهده شده برای عملکرد محصول زیتون به همراه ضریب تبیین مربوطه نشان می‌دهد. با توجه به ضریب تبیین به‌دست آمده ($62/8$)، مدل توسعه‌یافته شبکه عصبی مصنوعی برای شبیه‌سازی عملکرد زیتون، توانست حدود ۶۳ درصد از تنوع در عملکرد محصول زیتون منطقه مورد مطالعه را در مقیاس زمین‌ما توصیف نمایند. بخشی از تنوع که غیر قابل توصیف بوده است، می‌تواند ناشی از تفاوت در شیوه‌های مدیریتی کشاورزان مانند نوع آبیاری، هرس باغات، مبارزه با علف‌های هرز، نحوه تغذیه باغات و عوامل دیگر باشد. همچنین مقدار RMSE به دست آمده از مدل شبکه عصبی مصنوعی برابر ۰/۲۱ برای پیش‌بینی عملکرد محصول زیتون بود.

(شکل ۴) ترتیب اهمیت پارامترهای مؤثر بر عملکرد زیتون در منطقه مورد مطالعه را به کمک آنالیز حساسیت روش هیل نشان می‌دهد. همان‌طور که این شکل نشان می‌دهد، متغیرهای ورودی به مدل شبکه عصبی مصنوعی دارای ضریب حساسیت نسبی متفاوتی بودند. با توجه به اینکه مقدار ضریب حساسیت نسبی همه متغیرهای ورودی بیشتر از ۰/۱ بوده است، این نتیجه به معنی مؤثر بودن تمام پارامترهای در نظر گرفته شده بر عملکرد زیتون است.

در بین متغیرهای ورودی، پارامتر میزان نیتروژن برگ از اهمیت بیش‌تری نسبت به دیگر پارامترها برخوردار بوده و سپس فسفر قابل جذب خاک که نقش مؤثری در تولید گل و میوه دارد به ترتیب با بیشترین ضریب حساسیت نسبی به عنوان مهم‌ترین عوامل شناخته شد. به عبارت دیگر، تولید محصول زیتون بیش‌ترین حساسیت را

(رو به جلو و رو به عقب) انجام شد. این روش یک روش سیستماتیک برای آموزش شبکه‌های عصبی چند لایه است. پرسپترون چندلایه (MLP) با قاعده یادگیری پس انتشار^۱ (BP) با الگوریتم آموزش پس-انتشار لونیگ-مارکواردت (Levenberg-Marquardt) برای آموزش شبکه عصبی مصنوعی به کار رفت. شبکه عصبی پرسپترون بعنوان رایج‌ترین ساختار شبکه عصبی در مدل‌سازی محیط زیست و علوم خاک می‌باشد (۲). تابع انتقالی به کار رفته، یک تابع سیگموئیدی بود. یادگیری پس انتشار نوعی از یادگیری نظارت شده است که در آن میزان خطا از طریق باز پس‌گرداندن، باعث تغییر وزن‌ها در جهت بهبود پیش‌بینی و کاهش خطا می‌گردد. این الگوریتم یک شیوه گرادینان نزولی است که تابع خطای شبکه را حداقل می‌کند. هر ورودی مجموعه داده‌های آموزشی از بین شبکه و از لایه ورودی به لایه خروجی عبور می‌کند، خروجی شبکه با خروجی مورد نظر (هدف) مقایسه شده و خطا محاسبه می‌شود. در واقع خطاهای لایه خارجی به سمت لایه ورودی منتشر می‌شوند و وزن‌ها براین اساس اصلاح می‌شوند. این عمل تا زمانی ادامه می‌یابد که خطای لایه خروجی به حداقل برسد، در این مرحله آموزش شبکه به اتمام رسیده و شبکه توانایی تولید نتایج قابل قبول با ورودی‌های جدید را دارد.

سپس برای ارزیابی دقت شبکه از ضریب تبیین (معادله ۲) و مجذور میانگین مربعات خطا (معادله ۳) استفاده شد.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \quad (2)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N}} \quad (3)$$

که در آن‌ها: $\bar{y}$ و $\hat{y}$ به ترتیب متغیر وابسته اندازه‌گیری شده، میانگین متغیر وابسته و متغیر وابسته برآورد شده و N تعداد مشاهدات می‌باشد.

شناخت متغیرهای مؤثر در عملکرد زیتون، آنالیز حساسیت به روش هیل (۲۲) انجام شد. در این روش ضریب حساسیت نسبی^۲ از طریق تقسیم ضریب می‌باشد.

تعیین مهم‌ترین پارامترهای مؤثر بر عملکرد زیتون

به منظور حساسیت هر متغیر، زمانی که آن متغیر ۱۰ درصد کاهش می‌یابد بر حداکثر ضریب حساسیت محاسبه می‌نماید. بنابراین

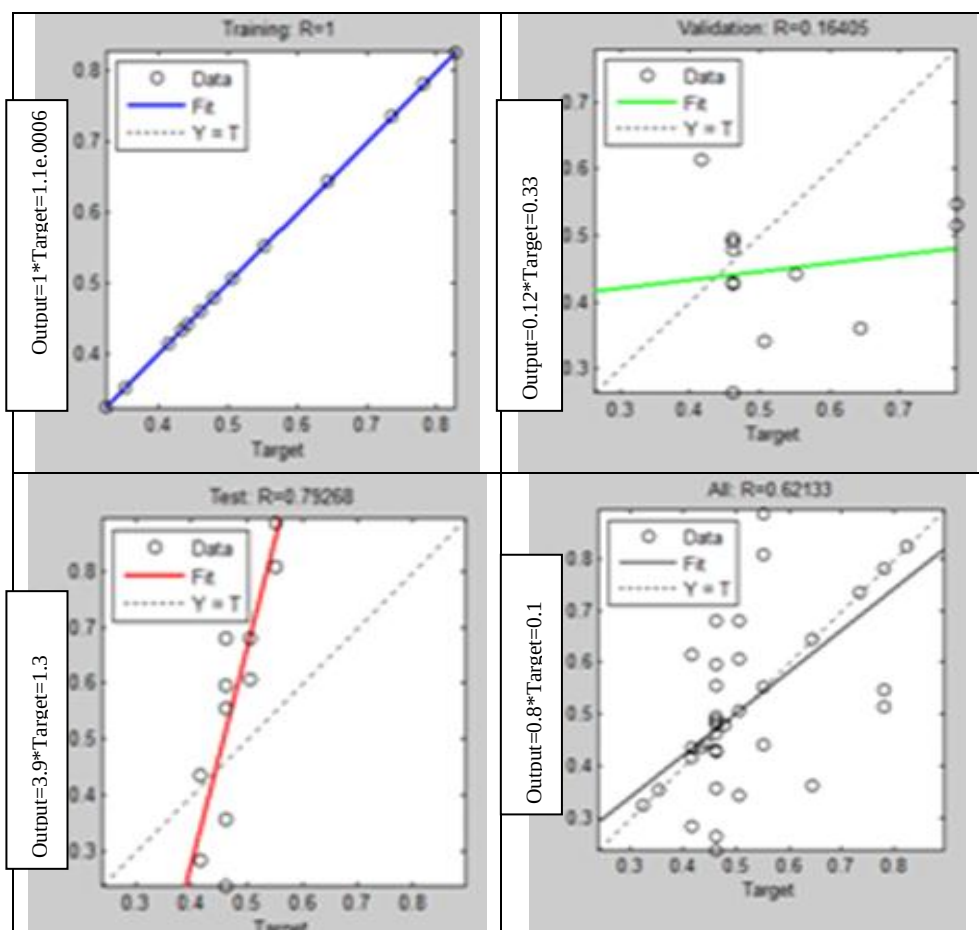
بهره‌وری گیاه در استفاده از نیتروژن در اندام هوایی به چند عامل از جمله زمان مصرف، میزان نیتروژن مصرفی، بارش و دیگر متغیرهای مربوط به آب و هوا بستگی دارد. شارما و همکاران (۵۲) گزارش نمودند که غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم همبستگی بالایی با عملکرد زیتون دارد.

نسبت به نیتروژن برگ و فسفر خاک داشت. این نتیجه اهمیت مدیریت و تغذیه باغات و مصرف متعادل کودهای نیتروژنه در افزایش محصول زیتون در مناطق مورد بررسی را نشان می‌دهد. نیتروژن معمولاً یک عامل کلیدی و عنصر اصلی در دستیابی به بازده مطلوب اکثر محصولات کشاورزی محسوب می‌گردد، دراین ارتباط الکوز و همکاران (۴) ضمن تاکید بر مدیریت صحیح نیتروژن، عنوان نمودند

جدول ۱- خلاصه بهترین ساختار مدل شبکه عصبی مصنوعی در پیش‌بینی عملکرد محصول زیتون

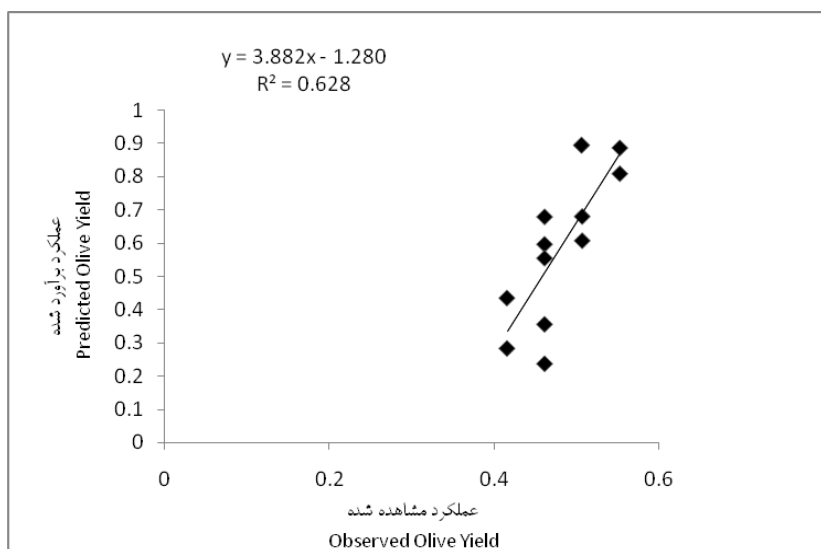
Table 1- Summary of the best structure of the artificial neural network model (ANN) for olive crop yield prediction

مدل	تعداد نرون‌های ورودی	تعداد لایه‌های مخفی	تعداد نرون‌های مخفی	معادله	تکرار (دوره)	ساختار ANN	Rآزمون
Model	No. of input neurons	No. of hidden layers	No. of hidden neurons	Function	Iteration	ANN structure	Testing R
عملکرد زیتون Olive yield	28	1	38	Tansig	20	1-38-28	0.79



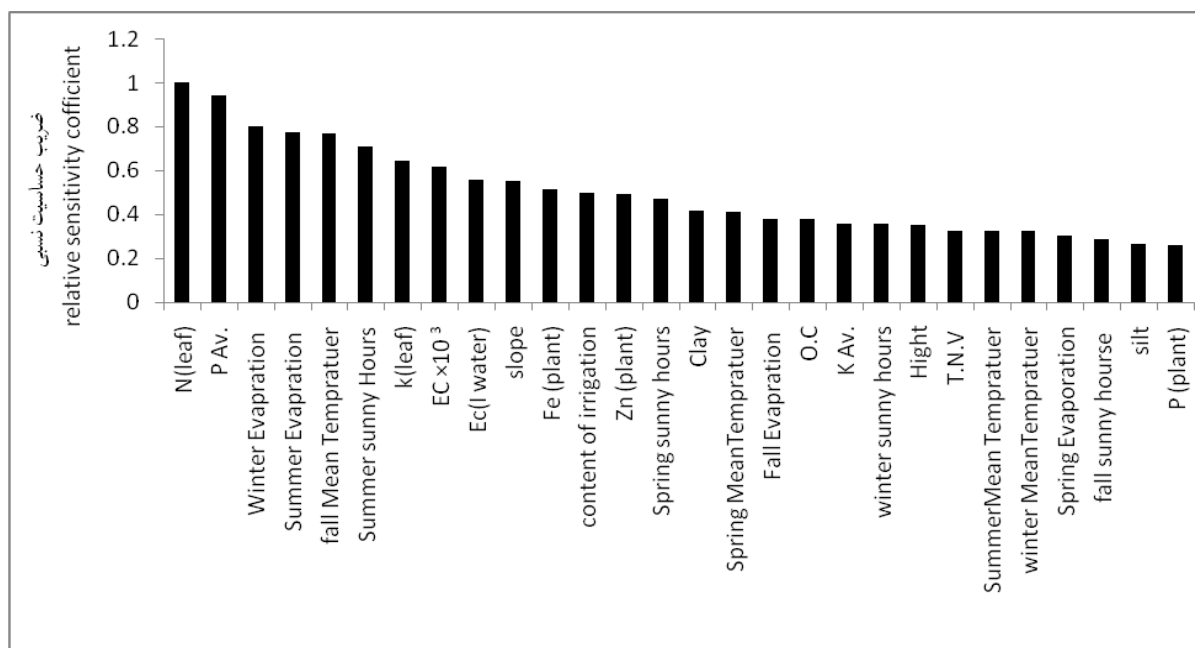
شکل ۲- بهترین R آزمون ایجاد شده شبکه عصبی مصنوعی توسط همه عوامل

Figure 2 -The best test R created for artificial neural network test by all factors



شکل ۳- همبستگی مقادیر مشاهده شده و مقادیر پیش‌بینی شده عملکرد محصول زیتون با در نظر گرفتن همه عوامل با استفاده از روش شبکه عصبی

Figure 3- Correlation between observed and predicted product yield values of olive by considering all factors using neural network method



شکل ۴- نمودار مقادیر ضریب آنالیز حساسیت نسبی کلیه پارامترهای ورودی در پیش‌بینی عملکرد زیتون با روش شبکه عصبی مصنوعی

Figure 4- Analysis of the relative sensitivity coefficient values of all input parameters in the prediction of olive yield using artificial neural network method

همکاران (۳) نیز عنوان نمودند سهم زیادی از عملکرد گندم توسط فاکتور تعداد دانه گندم در واحد سطح توجیه می‌گردد که این عامل به‌طور عمده به مصرف کودهای نیتروژنه بستگی دارد. محققین دیگر پارامترهای مهم و مؤثر بر عملکرد دانه را به ترتیب شامل شاخص قدرت جریان، ماده آلی خاک، انحناى سطحی، شاخص انتقال رسوب،

همچنین کوریا و همکاران (۱۴) عنوان نمودند که ۹۲ درصد عملکرد درختان در مدیریت تحت تاثیر غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منگنز و آهن بوده است. محنت‌کش و همکاران (۳۱) نشان دادند متغیرهای تامین کننده رطوبت و سپس نیتروژن کل خاک، و خصوصیات توپوگرافی در تولید دانه گندم دیم مؤثر می‌باشند. البریزیو

شیب، پایداری خاکدانه، رس، میانگین انحنای سطح زمین و مقدار روی قابل جذب خاک اعلام نمود (۳۸) که در تحقیق حاضر شیب و غلظت عنصر روی نیز اهمیت ویژه‌ای در عملکرد محصول باغات زیتون داشته است. دومین عامل موثر در عملکرد محصول زیتون در منطقه مطالعاتی فسفر خاک شناخته شده است. فسفر یکی از مهمترین عناصر مورد نیاز در تولید محصول به شمار می‌آید. فسفر در کلبه فعالیت‌های بیوشیمیایی، ترکیبات انرژی‌زا و ساز و کار انتقال انرژی دخالت دارد. فسفر جزئی از پروتئین سلول بوده، به عنوان بخشی از پروتئین هسته و غشای هسته است. این عنصر در جوانه زنی گل‌ها، تشکیل میوه، تسريع رسيدن آن، افزایش رشد رویشی درخت، بزرگ شدن اندازه درخت و افزایش کیفیت میوه نقش دارد. ازل (۱۷) در تحقیقی نشان داد نیتروژن و فسفر در مقایسه با پتاسیم بر شدت گلدی و مقدار باردهی زیتون تأثیر بیشتری داشته و با افزایش سطح نیتروژن برگ از ۰/۸ به ۱۷/۷ درصد، مقدار باردهی میوه به حداکثر رسیده است. بنابراین طبق نتایج این تحقیق با افزایش سطوح نیتروژن و فسفر باردهی میوه افزایش می‌یابد. نتایج ایوبی و همکاران (۷) در پیش‌بینی عملکرد گندم دیم با استفاده از ویژگی‌های خاک نشان داد که متغیرهای حاصلخیزی خاک نظیر فسفر قابل استفاده (۰/۸۴۷)، مواد آلی (۰/۸۱۰)، نیتروژن کل (۰/۷۴۲)، پتاسیم قابل استفاده (۰/۷۲۷) و CEC (۰/۷۲۵) دارای وزن‌های بالاتری نسبت به متغیرهای دیگر بوده و بنابراین سهم بیشتری در تغییرپذیری عملکرد داشته و بر این اساس می‌توان گفت تغییرپذیری ناشی از مدیریت عامل مهم تغییرپذیری خصوصیات خاک و در نتیجه عملکرد در باغات مورد مطالعه به شمار می‌رود.

دیگر پارامترهای مؤثر در تولید محصول زیتون تا رده دهم شامل تبخیر اسفند، تبخیر تابستان، میانگین دمای پاییز، ساعات آفتابی تابستان، میزان پتاسیم برگ، شوری خاک، شوری آب و شیب بود. تبخیر اسفند ماه که مصادف با آغاز فعالیت گیاه است، با ضریب حساسیت نسبی بیشتر در درجه سوم اهمیت قرار دارد. در منطقه رودبار در مراحل آغازین رشد که هنوز شاید آبیاری شروع نشده ولی تبخیر و تعرق وجود دارد و نیاز گیاه زیتون به آب تشدید می‌یابد. با توجه به اینکه درخت زیتون جزو گونه‌های همیشه سبز است و باوجود توقف رشد، گیاه در فصل زمستان به حیات خود ادامه داده و این نیاز وجود دارد. پس از این عامل، متغیر تبخیر تابستان مهم و مؤثر شده است که با توجه به اقلیم منطقه، در تابستان تبخیر شدید و عاملی مؤثر بر عملکرد است و اهمیت تأمین کافی و به موقع نیاز آبی زیتون را در تابستان نشان می‌دهد. تبخیر دارای اثرات مستقیم و غیر مستقیم بر رشد گیاه است. تأثیر مستقیم آن بر تأمین نیاز آبی گیاه در مراحل مختلف رشد گیاه و تأثیر غیر مستقیم آن بر نگهداری یا ذخیره آب در موقعیت‌های مختلف شیب است. سدراس و کالوینو (۴۸) عنوان نمودند ۹۰ درصد، از تغییرات عملکرد سویا و ۷۶ درصد تغییرات عملکرد ذرت

به کمبود آب مرتبط است. شیردلی و توسلی (۵۳) نشان دادند عملکرد و کارایی مصرف آب محصول زعفران، بیشترین حساسیت را به عامل آبیاری، سپس بارندگی و ساعات آفتابی دارد. بندل و هگر (۷) اعلام کردند ظرفیت نگهداری آب خاک تأثیر قابل توجهی بر عملکرد گندم داشته و این متغیر به عنوان عامل مهم در پیش‌بینی عملکرد تعیین گردید. در مناطق خشک و نیمه خشک میزان آب خاک محدود کننده‌ترین عامل در تولید محصولات زراعی و باغی محسوب می‌گردد و فرآیندهایی که توزیع آب در خاک را کنترل می‌کند، تولید محصول را نیز کنترل می‌کند (۵۴).

عامل مهم در جایگاه بعدی مربوط به میانگین دمای هوای پائین است. براساس نتایج پژوهش‌های انجام شده دمای هوا مهمترین عامل محیطی در گل‌دهی زیتون بوده و نیاز سرمایی برای نمو گل یک عامل حیاتی است، به طوری که هرگاه سرمای زمستان در منطقه‌ای وجود نداشته باشد، گل‌دهی زیتون انجام نشده و رشد رویشی جوانه‌ها نیز به دما بستگی دارد (۳۵).

از عوامل موثر دیگر در عملکرد محصول زیتون، پتاسیم برگ تعیین گردید. این عنصر از طریق تأثیر در جذب آب و مواد غذایی بیش‌تر توسط گیاه بر افزایش عملکرد زیتون مؤثر است. زیتون نسبت به کمبود نیتروژن، پتاسیم، روی و بور بسیار حساس بوده و مصرف بهینه کودهای حاوی این چهار عنصر، به همراه سایر کودها بسیار با اهمیت می‌باشد (۶۰). بنابراین لازم است در برنامه کوددهی و تغذیه درختان زیتون، به این عنصر توجه کافی صورت گیرد، البته این بدان معنی نیست که کمبود سایر عناصر اتفاق نمی‌افتد، بلکه در کنار برنامه کود دهی فوق، باید سالانه با تجزیه برگی نیاز درخت به سایر عناصر تشخیص داده شده و نسبت به تأمین آنها اقدام شود.

از عوامل موثر دیگر بر عملکرد باغات زیتون، شوری آب و خاک بودند. شوری، یکی از مشکلات اساسی مناطق خشک و نیمه خشک است. یکی از دلایل پایین بودن عملکرد کمی و کیفی باغات زیتون کشور، تنش‌های محیطی غیر زنده مثل شوری آب و خاک، خشکی و تنش عناصر غذایی می‌باشد (۵۹). در باغ‌های متراکم زیتون، به ازاء هر یک دسی زیرمس بر متر افزایش در شوری خاک میزان عملکرد به میزان ۱۶ تا ۲۳ درصد کاهش می‌یابد (۱۲). در بررسی عوامل موثر بر عملکرد باغات پسته رفسنجان شوری خاک تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر عملکرد پسته دارد (۴۹). پس از شوری عامل مهم توپوگرافی زمین یعنی شیب نقش مهمی در عملکرد داشته است. موقعیت‌های مختلف شیب آب قابل استفاده متفاوتی برای گیاه فراهم می‌نمایند. با توجه به این‌که مناطق مورد بررسی در این تحقیق جزء مناطق تپه‌ماهوری و با موقعیت‌های مختلف شیب بودند، به دلیل تغییر در عمق و دیگر خصوصیات خاک، مقدار آب قابل استفاده در این مناطق با موقعیت زمین‌نما تغییر کرده و این تغییرات دلیلی بر تغییر عملکرد محصول زیتون در این شرایط است که در شیب‌های بالاتر فقر عناصر غذایی و

نتیجه گیری

به طور کلی این تحقیق نشان داد که مقدار ازت برگ و فسفر خاک مهمترین عوامل برای تولید محصول زیتون است و سپس متغیرهایی که به نوعی به مقدار آب در خاک مربوط می‌شوند مانند (تبخیر تابستان، میانگین دمای پاییز، ساعات آفتابی تابستان) مهم تشخیص داده شدند. غلظت پتاسیم، آهن و روی در برگ و شوری های آب و خاک از عوامل تنش‌زا برای گیاه زیتون و شیب که بر عمق خاک و دسترسی آب و عناصر غذایی برای گیاه مؤثر است، می‌توانند به عنوان مهم ترین فاکتورها در تولید محصول زیتون محسوب گردند.

میزان رطوبت کمتر می‌تواند سبب کاهش عملکرد گردد. از عوامل موثر دیگر بر عملکرد زیتون، میزان آهن برگ بود که نقش موثری در سنتز کلروفیل و فتوسنتز و نهایتاً عملکرد ایفاء می‌نماید. میزان آب آبیاری عامل مهم دیگری در باغات منطقه است در باغات نقش مهمی بر عملکرد داشته و برای حصول عملکرد بهینه، تأمین آب مورد نیاز ضروری است. در نهایت میزان روی که نقش آن در بهبود اعمال بسیاری از سیستم‌های آنزیمی، سنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و متابولیسم اکسین نقش به سزایی ایفا می‌کند. نتایج این تحقیق با نتایج دیگر پژوهش‌ها که عنوان نموده‌اند عملکرد محصول تحت تأثیر عوامل مختلفی همچون عوامل اقلیمی، عوامل فیزیولوژیکی گیاه، ذخیره عناصر غذایی، مدیریت زراعی، مدیریت اراضی و وضعیت زمین و اجزا آن قرار می‌گیرد، تطابق دارد (۴۶؛ ۴۱؛ ۵۰).

منابع

- 1- Aguilera F., and Valenzuela. L.R, 2014. Forecasting olive crop yields based on long-term aerobiological data series and bioclimatic conditions for the southern Iberian Peninsula. Spanish Journal of Agricultural Research 2014 12(1): 215-224, Instituto Nacional de Investigación Tecnología Agraria Alimentaria (INIA). Available <http://dx.doi.org/10.5424 /sjar/2014121-4532>
- 2- Agyare W.A., S.J. Park., and P.L.G. V lek. 2007. Artificial neural network estimation of saturated hydraulic conductivity. Vadose Zone J. 6:423-431.
- 3- Albrizio R., Todorovic M., Matic T., and Stellacci A. M. 2010. Comparing the interactive effects of water and nitrogen on durum wheat and barley grown in a Mediterranean environment. Field Crop Research 115: 179-190.
- 4- Alcoz M.M., F.M. Hons and V.A. Haby. 1993. Nitrogen fertilization timing effect on wheat production, nitrogen uptake efficiency, and residual soil nitrogen. Agron. J. 85:1198-1203.
- 5- Anonymous. 2017. Statistical Booklet of Gilan Jihad Agriculture Organization, Ministry of Agriculture Jihad.
- 6- Ayoubi S., and Jalalian A. 2006. Land Evaluation (Agriculture and Natural Resources Applications). Isfahan University of Technology Publ. (in Persian)
- 7- Ayoubi S., Zamani S. M. and Khormali F. 2009. Wheat Yield Prediction through Soil Properties Using Principle Component Analysis, Iranian Journal of Soil and Water Research, 40 (1), 51-57. (In Persian)
- 8- Bagheri S., Gheysari M., Ayoubi Sh. and Lavaee N. 2012. Silage maize yield prediction using artificial neural networks. Journal of Plant Production, 19(4): 77-95. (in Persian with English abstract).
- 9- Bagherzadeh A., Ghadiri E., Souhani Darban.A. R.,and Gholizadeh.A. 2016. Land suitability modeling by parametric-based neural networks and fuzzy methods for soybean production in a semi-arid region. Model. Earth Syst. Environ. (2016) 2:104 .DOI 10.1007/s40808-016-0152-4
- 10- Black C.A., Evans D.D., White J.L., Ensminger L.E., and Clark F.E. 1965. Methods of Soil Analysis, Agronomy Monograph No. 9, Part II: Chemical and microbiological properties, Am.Soc. Argon., Madison, WI, USA.
- 11- Bremmer J.M., Mulvaney C.S. 1982. Total nitrogen. Methods of Soil Analysis, Agronomy Monograph No. 9, Part II: Chemical and microbiological properties, Am.Soc. Argon., Madison, WI, USA.
- 12- Chartzoulakis K. 2005. Salinity and olive: growth, salt tolerance, photosynthesis and yield. Agriculture Water Management. 78: 108-121
- 13- Chen Z. X., Ren J. Q., Zhou Q. B., and H. J, Tang. 2008. Regional yield estimation for winter wheat with MODIS-NDVI data in Shandong, China. International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation, 10:403-413.
- 14- Correia P. J., I. Anastácio M. Da F'e Candeias and M. A.Martins-Louc,~ao "Nutritional diagnosis in carob-tree: relationships between yield and leaf mineral concentration," Crop Science, vol. 42, no. 5, pp. 1577-1583, 2002.
- 15- Doraiswamy P. C., Moulin S., Cook P. W., and V., Stern. 2003. Crop yield assessment from remote sensing. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing, 69: 665-674
- 16- Duarte F., N. Jones and L. Fleskens.2008. "Traditional olive orchards on sloping land: sustainability or abandonment?" Journal of Environmental Management, vol. 89, no. 2, pp. 86-98, 2008.
- 17- Erel R. 2008. Flowering and Fruit Set of Olive Trees in Response to Nitrogen, Phosphorus, and Potassium. J. AMER. SOC. HORT. SCI. 133(5):639-647
- 18- Galán C., García-Mozo H., Vázquez L., Ruiz Valenzuela L.,Díaz de la Guardia C., and Domínguez E. 2008.

- Modeling olive crop yield in Andalusia, Spain. *Agron J* 100: 98-104
- 19- Gee G.W., and Bauder J.W. 1986. Particle size analysis. In: Klute A. (Ed), *Methods of soil analysis*. Part 1. 2nd ed. Agron. Monogr. 9. ASA. Madison. WI, USA. pp: 383-411.
 - 20- Graaff J. De., and L. A. A. J. Eppink. 1999. "Olive oil production and soil conservation in southern Spain, in relation to EU subsidy policies," *Land Use Policy*, vol. 16, no. 4, pp. 259-267, 1999.
 - 21- Heydari M. 2006. Identification of dominant soils and the effect of their properties on leaf concentration, quantity and quality of pistachio in Anar region, Rafsanjan. MSc. Thesis, Soil Science Department, Agricultural College, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran. (In Persian with English abstract).
 - 22- Hill M. C. 1998. *Methods and guidelines for effective model calibration*. U.S. Geological
 - 23- Hosseini-Mazinani M., Torkzaban B. 2013. Iranian olive catalogue "Morphological and molecular characterization of Iranian olive germplasm". National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology. 2013. 978-964-8516-23-4.
 - 24- Kaul M., Hill R.L. and Walthall, C. 2005. Artificial neural networks for corn and soybean yield prediction. *Agricultural Systems*, 85: 1-18.
 - 25- Keshavarzi A., Sarmadian F., Sadeghnejad M., and Pezeshki P. 2010. Developing pedotransfer functions for estimating some soil properties using artificial neural network and multivariate regression approaches. *ProEnvironment*, 3: 322-330.
 - 26- Khairunniza-Bejo S., Mustaffha S., Ishak W., Ismail W. 2014. Application of artificial neural network in predicting crop yield. A review. *Journal of Food Science and Engineering*, 4, 1-9.
 - 27- Khakural, B.R., Robert, P.C., and Huggins, D.R. 1999. Variability of corn/soybean yield and soil/landscape properties across a southwestern Minnesota landscape. In *Proceedings of the fourth international conference on precision agriculture*, pp: 573-579.
 - 28- Maselli F., and F. Rembold. 2001. Analysis of GAC NDVI data for cropland identification and yield forecasting in Mediterranean African countries. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 67: 593-602.
 - 29- McLean E.O. 1982. Soil pH and lime requirement. *Methods of Soil Analysis*, Agronomy Monograph No. 9, Part II: Chemical and microbiological properties, Am. Soc. Argon., Madison, WI, USA. pp. 199-233.
 - 30- Mehnatkesh A. 2012. Modeling of Soil and landscape and prediction of dryland wheat production using different models in central Zagros, Ph.D. thesis in Isfahan University of Technology (In Persian with English Summary)
 - 31- Mehnatkesh A., and Ayoubi S., and Dehghani A. 2017. Determination of the Most Important Factors on Rainfed Wheat Yield by Using Sensitivity Analysis in Central Zagros. *Iranian Journal of Field Crops Research* Vol. 15, No. 2, summer. 2017, p. 257-266 (In Persian with English Summary)
 - 32- Menhaj M., 2002. *Neural Network Foundations*. Iran Amir Kabir University of Technology Publications.
 - 33- Miao Y., Mulla D.J. and Rober P.C. 2006. Identifying important factors influencing corn yield and grain quality variability using artificial neural networks. *Precision Agriculture*, 7: 117-135.
 - 34- Michelakis N. 2002. Olive Orchard Management: Advances and problems. *Proc. 4th International Symposium on Olive Growing*. Eds. C. Vitagliano and G.P. Martelli. *Acta Hort*. 586: 239-245.
 - 35- Mohammadi H., and Zinanlou A., and Roshan A. 2008. Olive Temperature Compatibility Modeling (*Olea europaea* L.) in Iran, *Geographical Research*, No. 64, pp. 37-51. (in Persian)
 - 36- Montazer A.A., Azedegan B., and Shahraki M. 2009. Performance evaluation of artificial neural network models in estimation of yield and water productivity of wheat on the basis of climate factor and consumption water-nitrogen fertilizer. *Iranian Journal of Water Research* 3 (5): 17-29. (In Persian with English Summary).
 - 37- Niazian M., Sadat-Nooria S.A., Abdipour M. 2018. Modeling the seed yield of Ajowan (*Trachyspermum ammi* L.) using artificial neural network and multiple linear regression models. *Industrial Crops & Products* 117 (2018) doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.03.013-234.
 - 38- Norouzi M. 2009. Prediction of rainfed wheat yield using artificial neural network in Ardal district of Chaharmahal and Bakhtiari province. M.Sc. Thesis, Collage of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. 112 p. (In Persian with English Summary)
 - 39- Olsen S. R. and L. E. Sommers. 1982. Phosphorus. In: A. L. Page (Eds.), *Methods of Soil Analysis*, Agron. No. 9, Part 2: Chemical and microbiological properties, 2th ed. PP. 403-430
 - 40- Page MC., Sparks DL., Noll M., Hendricks GJ. 1987. Kinetics and mechanisms of potassium release from sandy middle Atlantic Coastal Plain Soils. *Soil Science Society of America Journal* 51: 1460-1465.
 - 41- Quanqi L. Baodi D., Yunzhou Q., Mengyu L., and Jiwang Z. 2010. Root growth, available soil water, and water-use efficiency of winter wheat under different irrigation regimes applied at different growth stages in North China. *Agr. Water Manage.* 97, 1676-1682
 - 42- Rapoport HF., Hammami SBM., Martins P., Pérez-Priego O., and Orgaz F. 2012. Influence of water deficits at different times during olive tree inflorescence and flower development. *Environ Exp Bot* 77: 227-233.
 - 43- Ribeiro H., Cunha M., Abreu I. 2008. Quantitative forecasting of olive yield in northern Portugal using a bioclimatic model. *Aerobiologia* 24: 141-150.
 - 44- Richards LA. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. *USDA Handbook* No. 60. U.S.

- Government Printing Office, Washington, DC. 160 pp.
- 45- Rossiter D. G. 2003. Biophysical models in land evaluation. Encyclopedia of life support system (EOLSS), EOLSS pub. UK.16pp.
- 46- Royo C., Aparicio N., Blanco R. and Villegas D. 2004. Leaf and green area development of durum wheat genotypes grown under Mediterranean conditions. Eur. J. Agron. 20: 419–430.
- 47- Russo C., Cappelletti G.M, Nicoletti G.M., Di Noia A.E., and Michalopoulos G.2016, Comparison of European Olive Production Systems Sustainability 2016, 8, 825; doi:10.3390/su8080825. www.mdpi.com/journal/sustainability
- 48- Sadras V.O., and Calviño P.A. 2001. Quantification of grain yield response to soil depth in soybean, maize, sunflower, and wheat. Agronomy Journal 93: 577–583
- 49- Salehi M.H., and HosseiniFardS J. 2012. Soil and ground water relationships with pistachio yield in the Rafsanjan area, Iran. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 43: 660-671.
- 50- Sepaskhah A. R., Azizian A., and Tavakoli A. R. 2006. Optimal applied water and nitrogen for winter wheat under variable seasonal rainfall and planning scenarios for consequent crops in a semi-arid region. Agr. Water Manage. 48: 113-122. (In Persian)
- 51- Seyyed Jalali A. 2015. Determination of Land Production Potential for Wheat in Gotvand and Shooshtar Regions of Khuzestan Province. Land Management Journal, Volume 3, Issue 1.2015. (In Persian)
- 52- Sharma S.D., Singh R. P., and Sharma C.L.2005.“Periodical changes in foliar macronutrient status of olive,” Acta Horticulturae, vol. 696, pp. 249–254, 2005.
- 53- Shirdeli A., and Tavasoli A. 2015. Forecast of Saffron Water Performance and Efficiency Using Neural Network Models Based on Climate and Water Factors. Journal of Agriculture and Technology of Saffron Volume 3, Issue 2, Summer 2015, p. 121- 131 University of Torbat Heydarieh Ministry of Science Research Technology, (in Persian)
- 54- Si C., and Farrell R.E. 2004. Scale-dependent relationship between wheat yield and topographic indices: A wavelet approach. Soil Sci. Soc. Am. J. 68: 577-587
- 55- Soares J.D.R., Pasqual M., Lacerda W.S., Silva S.O. and Donato S.L.R. 2013. Utilization of artificial neural networks in the prediction of the bunches' weight in banana plants. Scientia Horticulturae, 155: 24–29.
- 56- Sudduth K.A., Drummond S.T., Birrell S.J., and Kitchen N.R. 1997. Spatial modeling of crop yield using soil and topographic data. P 439-447. In: Proceedings of the First European Conference on precision agriculture, edited by J.V. Stafford (BIOS Scientific Publishers, Oxford, UK).
- 57- Sys C., Van Ranst E., and Debaveye J.1993. Land evaluation, Part III. Crop requirements. General Administration for development cooperation, Brussels.
- 58- Sys C., Van Ranst E., and Debaveye J. 1991. Land evaluation, Part I and II. General Admhnstration for development cooperation, Brussels.
- 59- Taheri M., and Basirat M., and khoshzaman T., and Mostashari M. and Shakeri M. 2017. Soil Fertilizer and Plant Nutrition Management in Olive Trees, Soil and Water Research Institute of Iran, 2017, (in Persian)
- 60- Taheri M., Malakouti M. 2000. The necessity of optimum use of fertilizer for increasing the yield and quality improvement of olive in the country. Technical publication No: 66, Agricultural Education Publishing House. Karaj, Iran
- 61- The International Olive Oil Council. Available online: <http://www.internationalolive-oil.org/> (accessed on 18 April 2016).
- 62- Torkashvand A.M., Ahmadi A., Nikravesh N.L. 2017. Prediction of kiwifruit firmness using fruit mineral nutrient concentration by artificial neural network (ANN) and multiple linear regressions (MLR). Journal of Integrative Agriculture, 16, 1634–1644.
- 63- Touzani A. 1999. Olive farming and the environment. Proc. Of IOOC, Int. Seminar on Genetic Resources, Florence March 1999: 1-12.
- 64- Tubeileh A., Turkelboom F., Al-Ibrahim A., Thomas R., and Tubeileh. K.S. 2014. Modelling the Effects of Soil Conditions on Olive Productivity in Mediterranean Hilly Areas.International Journal of Agronomy.Volume 2014, Article ID 672123, 12 pages. Hindawi Publishing Corporation .doi:org/10.1155/2014/672123.
- 65- Velička R., Marcinkevičienė A., Pupalienė R., Butkevičienė L.M, Kosteckas R., Čekanauskas S.,and Kriauciūnienė Z. 2016. Winter oilseed rape and weed competition in organic farming using non-chemical weed control. Zemdirbyste-Agriculture,103, 11
- 66- Walkey A., and Black I.A. 1982. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid in soil analysis. 1: Experimental. Soil Sci. 79: 459-465.
- 67- Wall L., Larocue D., and leger P.M.2007.The early explanatory power of NDVI in crop Yield modeling.International Journal of Remote Sensing, 29:2211-2225.
- 68- Wang L.G., Qiang Qi.Fu., and Liu Y. 2006. Soybean yield forecast application based on Hopfield ANN model. Am. Sci. 2: 85-89.



Determination of the Most Important Factors Affecting Yield of Olive (*Olea europaea* L.) Orchards in the North of Iran

A.Ajili Lahiji¹- A. Mohammadi Torkashvand^{2*}- A. Mehnatkesh³ and Mirnaser Navidi⁴

Received: 31-07-2019

Accepted: 23-10-2019

Introduction In order to land classification for agricultural and natural resources, the most important criterion and factor is the production or yield of the lands. The best way to evaluate a method is to interact between the yield and potential of the product with the land specification involved in the production. One of the new methods in the land evaluation for different uses is the modeling or simulation of the intended use. Artificial neural networks are one of the new tools that are used today to simulate yield and determine the effective factors in the production of agricultural crops. New land evaluation methods include different modeling techniques, which these new methods, including simulations, are used in land valuation methods to test the ability of models for determining the relationship mentioned. An artificial neural network is one of the techniques that can do nonlinear analysis. It is important to recognize the most important input parameters to the predictive models of olive yield, which are also considered to be effective variables in production. Through the process of sensitivity analysis, valuable information about the sensitivity of the model to its input variables can be provided to the designer and model architect. In north of Iran, in the southern areas of Gilan Province, the most important olive gardens of the country are located in the southern part of the country. Different soil and water, topographical and climatic factors affect the yield of olive orchards.

Materials and Methods Climatic data, soil and water characteristics, topographic characteristics and leaf nutrition elements as input variables and olive yield were used as output models. Twenty-eight factors were selected as the most important factors or variables affecting the yield of olive orchards. These input variables included soil properties: EC, (TNV), organic carbon percentage, available phosphorus, available potassium, clay percentage and silt percentage; irrigation water characteristics including: EC and content of irrigation water; topographic characteristics including: altitude and the slope; the concentration of nutrients in leaves included: nitrogen, phosphorus, potassium, iron and zinc; climatic factors including: sunny hours, evaporation rate, average temperature and olive yield were considered as output of artificial neural network model.

Results and Discussion Using the MATLAB software by artificial neural network, the best structure of this network was obtained for the component of the yield of olive. The trained structure had 28 input nodes in 5 groups and one output node. The number of hidden nodes, 38 nodes and the most appropriate number of repetitive learning based on the test and error, 20 were determined for olive product yield. After determining the best structure of the neural network with a R-test of 80%, using Hill's sensitivity analysis, the model's response to each of the input variables was studied and the most important factors influencing the yield of olive oil were obtained. Based on the results of sensitivity analysis, the most important parameters affecting the yield of olive are content of leaf nitrogen, soil phosphorus, winter evaporation, summer evaporation, average autumn temperature, summer sunshine, leaf potassium, salinity, salinity, and slope, respectively. In general, this study showed that the amount of nitrogen and phosphorus is the most important factor for the production of olives, and then variables that are related to the amount of water in the soil, (summer evaporation, average autumn temperature, summer sunshine), were identified as important. The concentration of potassium, iron and zinc in the leaf as a nutrient element and water and soil salinity from stressors for plants and slope are important topographical factors that affected the amount of soil depth and soil water content as the most important factors in olive crop production.

1 and 2- Ph.D Student and Associate Professor, Department of Soil Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(*-Corresponding Author Email: m.torkashvand54@yahoo.com)

3 -Research Assistant Professor of Soil and Water Research Department, Charrmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran

4 -Research Assistant Professor of Soil and Water Research Department, Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Conclusion In brief, the role of micro and macro nutrients and the factors affecting the maintenance of water in the soil and providing moisture for the plant. In addition to nutrients, gardeners should consider soil and water salinity, which is a stressor for plants, as well as slope, which is important topography factor that effective on soil depth and water available and nutrients for plants as the most important factors in olive production.

Keyword: Artificial neural network, Gilan, Olive (*Olea europaea* L.), Modeling, Sensitivity analysis.



بررسی اثر برخی مالچ‌های آلی بر افزایش مقاومت به سرما در گیاه تاج الملوک (*Aquilegia sp.*)

یحیی سلاح ورزی^{۱*} - مریم کمالی^۲ - جعفر نباتی^۳ - حمید احمدپور میر^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۲۴

چکیده

برای بررسی اثر تنش یخ زدگی و ارزیابی تحمل به آن با استفاده از انواع مالچ‌های آلی در گیاه تاج الملوک تحت شرایط کنترل شده، این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شامل ۴ نوع مالچ در ترکیب با خاک (شاهد بدون استفاده از مالچ)، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد کود دامی، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد سوزنی برگ، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد سبوس برنج) و ۵ سطح دمای یخ زدگی (۰، -۵، -۱۰، -۱۵، -۲۰ درجه سانتیگراد) بود. جهت ارزیابی تحمل به دماهای یخ زدگی درصد نشت الکترولیت‌ها، تعداد برگ، سطح سبز برگ، وزن خشک بوته و محتوای پروتئین برگی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد با کاهش دما از ۰ به -۲۰ درجه سانتیگراد قطر ساقه، سطح برگ و تعداد برگ در تیمار مالچ سبوس به ترتیب ۴۲/۶، ۷۳/۴، ۲۱/۲ درصد، در مالچ سوزنی برگ ۳۵/۲، ۶۴/۹، ۴۷/۶ درصد، در مالچ کودی ۲۰/۱، ۴۶/۴، ۷/۸ درصد و در شاهد مالچ ۳۲/۸، ۷۹، ۳۰/۷ درصد کاهش یافت در دمای -۵ درجه سانتیگراد مقدار پروتئین برگ ۲۶ درصد و در دمای -۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. همچنین کمترین مقدار پروتئین (۰/۷۳ میکرومول بر گرم وزن تر) در گیاهان تحت تیمار با مالچ سبوس بود. به طور کلی، تنش یخ‌زدان باعث کاهش صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده در تاج الملوک شد ولی استفاده از مالچ‌های آلی منجر به بهبود این صفات گردید به طوریکه بهترین نتایج در مالچ کود دامی بدست آمد.

واژه های کلیدی: پروتئین، تاج الملوک، کربوهیدرات، کلروفیل کل، نشت الکترولیت، وزن خشک

مقدمه

یخ‌زدان از درجات مقاومت متفاوتی برخوردار هستند. در فرآیند یخ زدگی تشکیل یخ و خسارت‌های ناشی از آن اثر جدی بر رشد گیاه دارند. به طوری که تشکیل بلورهای یخ در اطراف سلول‌های گیاه سبب تخریب غشاء، نشت الکترولیت‌ها و ایجاد لکه‌های نکروزه در گیاه می‌شود (۳). با این وجود هنگامی که گیاهان در پاییز با کاهش طول روز و دماهای کم تر از ۲۴ درجه سانتیگراد مواجه می‌شوند به سرما خو می‌گیرند. در این شرایط خوسرمایی سبب بهبود نسبی تحمل آن‌ها به شرایط زمستان خواهد شد و گیاهان قادر خواهند بود که بقای زمستانه ی نسبتاً خوبی داشته باشند (۲۱). علی‌رغم این وضعیت، وقوع سرماهای شدید در برخی سال‌ها سبب بروز خسارات جبران ناپذیری به گیاهان شده و حتی در مواردی منجر به مرگ کامل گیاهان می‌شود (۴۱). به همین دلیل شناسایی گیاهان متحمل به سرما و کاشت آن‌ها در مناطق تحت خطر تنش یخ زدگی از جمله راهکارهای مناسب جهت کاهش خسارت سرما می‌باشد (۲۸). از نظر مقاومت به دماهای پایین در میان گونه‌های چمن به عنوان یک گیاه پوششی اختلاف وجود دارد، به طوریکه حداقل دمای قابل تحمل در گیاه پوششی چمن فلوراتام -۵ درجه سلسیوس می‌باشد (۱۸). این

هر ساله با شروع فصل سرما و افت ناگهانی و شدید دما، احتمال خسارات سرمازدگی و یخ‌زدان در گیاهان فضای سبز از مشکلات و چالش‌های پیش روی کارشناسان فضای سبز شهری می‌باشد که در صورت عدم مدیریت به موقع می‌تواند در مدت کوتاهی خسارات جبران ناپذیری را به فضای سبز وارد کند. در واقع سرمازدگی و یخ‌زدان دو مقوله جدا از یکدیگر می‌باشد اما هر دو آن‌ها جزء تنش‌های محیطی محسوب می‌شوند (۴). تنش در گیاهان برابر است با تحریکاتی که منجر به برهم خوردن تعادل زیستی گیاه می‌شود. تنش در شرایطی بوجود می‌آید که یک عامل محیطی خارج از حد نرمال بر گیاه تاثیر می‌گذارد. گیاهان مختلف در مقابل تنش سرما و یا

۱، ۲ و ۴ - به ترتیب استادیار، دانش آموخته دکتری و دانشجوی کارشناسی ارشد

علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: selahvarzi@um.ac.ir)

(*) نویسنده مسئول:

دما در چمن برمودا گراس ۱۷ - درجه سلسیوس و در چمن پوششی زویسیا ۸- تا ۱۴ - درجه سلسیوس می باشد (۱۴). از این رو تعیین آستانه تحمل به سرما و همچنین تعیین گونه ای از گیاهان که دارای مقاومت به دماهای پایین باشد، حائز اهمیت است.

از طرفی استفاده از برخی مواد آلی مانند مالچ های آلی باعث افزایش دمای مثبت دمای خاک شده (۶) و بنابراین گیاه را در برابر تنش های سرمازدگی کمک می کند (۱۷).

واژه خاکپوش (مالچ) از کلمه آلمانی (molsh) به معنی نرم، گرفته شده و عموماً دارای ضخامت ۱ تا ۴ اینچ (۲/۵۴- ۱۰/۱۶ سانتیمتر) می باشند (۸). خاکپوش ها انواع متفاوتی دارند و ممکن است از ترکیبات شیمیایی، مواد معدنی طبیعی، ترکیبات آلی و برخی گیاهان زنده تهیه شوند. از انواع خاکپوش ها فرآورده های چوب از قبیل پوست خرد شده کاج (۱۵، ۲۶)، تکه های پوست درختان جنگلی (۲۶) پوست خرد شده درختان سرو (۸)، پالت های چوب بازیافت شده و خرده های چوب سایر گیاهان (۲۶)، از جمله خرده های چوب درخت کاکائو توسط استیوارد و همکاران (۳۹) گزارش شده است. یکی دیگر از فرآورده های چوب، خاک اره می باشد که دارای بافت ظریفی بوده و برای تجزیه شدن احتیاج به نیتروژن خاک دارد (۳۹). کاه کاج (Straw pine) و کاه جو نیز در زیر مجموعه خاکپوش های آلی کاه می باشند (۳۹). محصولات کشاورزی شامل چوب ذرت، کمپوست قارچ، پوست محصولات متنوع خشکباری نیز به عنوان خاکپوش آلی استفاده می گردد (۸). برگ های سوزنی کاج (۲۶) نیز با دارا بودن ظاهری زیبا در بهبود ظاهری منظر موثرند و باعث ایجاد نفوذپذیری خاک و کاهش pH خاک می شود (۸). سرزنی چمن بعد از عملیات چمن زنی نیز یکی دیگر از انواع ارزشمند خاک پوش های آلی غیر زنده است (۳۹). یکی از انواع مالچ های آلی کودهای دامی هستند. کودهای دامی علاوه بر اثرات مثبت بیولوژیک و اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به علت اینکه عناصر غذایی آنها به آهستگی آزاد می شود و در اختیار گیاه قرار می گیرد، در محیط زیست آلودگی کمتری ایجاد می کنند (۳۵).

استفاده از خاکپوش های غیر زنده به دلیل افزایش مثبت دمای خاک (۷، ۲۰)، سرکوب علف های هرز (۳۲، ۳۷) و حفظ رطوبت (۴۲) به طور گسترده ای در کشاورزی رواج دارد. همچنین این خاکپوش ها در ارتفاع، رشد و گلدهی (۳۲)، زودرسی (۳۷) و عملکرد کل محصول (۳۷) موثر می باشند. استفاده از مالچ های بقایای گیاهی و گیاهان به عنوان خاکپوش در اراضی کشاورزی و فضای سبز بیشتر معمول می باشد. خاکپوش ها در فصول گرم سبب کاهش دمای خاک می گردند. کاربرد خاکپوش می تواند گیاه را در برابر تنش های سرمازدگی نیز کمک کند (۱۷). تجزیه خاکپوش های آلی در شرایط دما و رطوبت مناسب، عناصر غذایی را به تدریج آزاد می سازد و در اختیار ریشه گیاه و میکروارگانیسم های خاک قرار می دهد. خاکپوش های آلی

می توانند اثر سمیت نمک بر رشد گیاهان را کاهش و به صورت فعالی نمک زدایی خاک را افزایش دهند. مهم ترین مزیت مالچ ها افزایش دمای خاک در ناحیه کشت بذر است که منجر به تسریع رشد و رسیدن محصول می شود (۳۶). استفاده از کاه و کلش به عنوان مالچ منجر به تسریع جوانه زنی در گیاه خیار شد (۳۶). استفاده از مالچ نی منجر به افزایش دما در شب می شود، بنابراین گیاهان را از استرس درجه سانتیگراد حرارت محافظت می کند که تاثیر مثبتی بر رشد و توسعه گندم دارد (۳). گیاه چمن به عنوان یک مالچ آلی تاثیر مثبت بر فعالیت آنزیم های خاک و زیست توده در خاک دارد (۲۵). خاکپوش ها از دیدگاه زیبا شناختی، اقتصادی و زیست محیطی نیز برای فضای سبز شهری سودمند هستند. بنابراین، لازم است استفاده از خاکپوش ها، به ویژه بقایای گیاهی و مواد آلی بازیافتی و دانش و تکنیک های مربوط به آن در فضای سبز شهری مورد توجه بیشتری قرار گیرد (۱۷).

تاج الملوک از گیاهان چندساله از تیره آلاله سانان^۱ و جنس *Aquilegia* است که به صورت گسترده در فضای سبز کشت می شود. در این جنس در حدود ۶۰-۷۰ گونه وجود دارد که اغلب در علف زارها، بیشه زارها و در ارتفاعات بالا در سراسر نیمکره شمالی می رویند. اندازه بوته آن در حدود سی تا صد سانتی متر بوده و در زمین با خاک معمولی و مرطوب و آفتابگیر رشد می کند. در برابر سرما مقاوم است. به لحاظ کوتاه بودن گیاه، در حاشیه بوستان ها به عنوان گیاه پوششی کاشته می شود. زمان گلدهی آن از اوایل تا اواسط بهار هر سال می باشد و معمولاً گل های زیبای آن دارای ۵ گلبرگ و گاهاً بیشتر است. رنگ شکوفه آن از آبی و سفید به زرد، قرمز و یا صورتی می باشد و از سال دوم انتظار گل دهی می رود. گل تاج الملوک در ترکیب با میزبان های پهن برگ بسیار زیبا می باشد. با توجه به خواص دارویی آن در بیماری های نظیر سرفه، روماتیسم، نقرس و سیاتیک شناخته شده است (۱۹). با توجه به تاثیر مالچ های آلی بر کنترل دمای زمستانه، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر دماهای یخبندان و تاثیر استفاده از مالچ های آلی بر مقاومت به یخبندان گیاه تاج الملوک به عنوان یک گیاه پر کاربرد در فضای سبز شهری اجرا شد.

مواد و روش ها

این پژوهش در گلخانه های علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گیاه تاج الملوک (*Aquilegia* sp.) در چهار تکرار اجرا شد. به این منظور از گلدان هایی با قطر دهانه ۱۱ سانتیمتر محتوی خاک و ماسه به نسبت ۱:۱ استفاده شد. تیمار های آزمایشی

سپس وزن خشک (آون ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۳۸):

$$[100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر در شرایط اشباع}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})] = \text{RWC} (\%)$$

شاخص کلروفیل با دستگاه Spad (Spad 502, Minolta, Japan) اندازه گیری شد. تعیین میزان کلروفیل a, b, کل و کارتنوئید با نمونه گیری تصادفی از برگ‌های بالغ مطابق روش دره و همکاران (۱۲) بود. بدین منظور ابتدا با استفاده از متانول، عصاره گیری انجام و نهایتاً میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۵۳ و ۶۶۶ قرائت شد.

$$\text{CHL}_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653} \quad (۱)$$

$$\text{CHL}_b = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666} \quad (۲)$$

$$\text{CHL}_t = \text{CHL}_a + \text{CHL}_b \quad (۳)$$

به منظور استخراج پروتئین برگ‌ها، عصاره طبق روش بیتز و همکاران (۵) استخراج و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Spectronic 20 D ساخت شرکت Milton Roy, USA) در طول موج ۵۲۰ نانومتر میزان جذب نور قرائت شد. جهت استخراج کربوهیدرات کل برگ موجود در گیاه تاج الملوک ۰/۵ گرم نمونه از برگ گیاه توزین شد و سپس در هاون چینی له شده و به مقدار ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه شد. قسمت بالای محلول (روشناور) جدا گردید و با ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد مجدداً استخراج عصاره بر روی رسوبات باقیمانده ادامه یافت. عصاره استخراج شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده، ۳ میلی لیتر معرف آنترون (۱۵۰ میلی گرم آنترون خالص + ۱۰۰ میلی لیتر سولفوریک اسید ۷۲ درصد) اضافه گردید. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده و پس از خنک شدن نمونه‌ها، جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و با استفاده از محلول استاندارد منحنی آن رسم گردید (۱۳). تجزیه آماری داده‌های این تحقیق با استفاده از نرم افزار MSTAT-C صورت گرفت و برای رسم نمودارها از برنامه EXCEL استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس جدول ۱، اثرات ساده و متقابل دو تیمار تنش یخبندان و مالچ بر صفات سطح کل برگ و تعداد برگ معنی دار شد. تیمار مالچ بر قطر ساقه گیاه تاج الملوک اثر معنی دار نداشت و اثرات ساده مالچ و دمای یخبندان بر وزن تر هوایی دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد بود.

شامل ۴ نوع مالچ (شاهد (بدون استفاده از مالچ)، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد کود دامی، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد سوزنی برگ، ۵۰ درصد خاک+۵۰ درصد سبوس برنج) و ۵ سطح دما (۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰- درجه سانتیگراد) بود. مالچ تا ارتفاع ۴ سانتیمتری بالای بوته روی گیاه سرزنی شده تاج الملوک و با ۳-۵ جوانه رویشی قرار گرفت. مالچ سوزنی برگ استفاده شده از درخت کاج بود. برگ‌های خشک شده درختان کاج جمع آوری و پس از خرد شدن با خاک به نسبت گفته شده ادغام شد. گیاهان تاج الملوک پس از تیمار با مالچ‌های فوق تحت تیمارهای دمایی ذکر شده قرار گرفتند. به منظور اعمال تیمارهای سرمایی گل‌دان‌ها، ۲۴ ساعت قبل از تیمار، آبیاری و سپس به فریزر ترموگرادیان منتقل شدند. دمای فریزر در شروع آزمایش ۲- درجه سانتیگراد بود و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت یک درجه سانتی گراد در ساعت کاهش یافت. برای اعمال تیمار انجماد گیاهان تحت ۵ تیمار دمایی ذکر شده قرار گرفتند. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط آزمایش، گیاهان در هر تیمار دمایی، به مدت سه ساعت نگه داشته شده و سپس از فریزر خارج و جهت کاهش سرعت ذوب آن‌ها، بلافاصله به اتاقک با دمای ۴ درجه سانتیگراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در آن جا نگهداری و سپس به گلخانه منتقل شده و با توجه به ماهیت بروز علائمی هم چون نشت یونی، بلافاصله بعد از هر تیمار دمایی، نشت الکترولیت ارزیابی شد. برای بررسی نشت یونی، قطعات یکسان برگ‌ها به ابعاد یک سانتی‌متر مربع (دو طرف رگبرگ اصلی) تهیه و در درون لوله آزمایش درپوش دار محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر قرار داده و پس از ۲۴ ساعت شیکر در دمای آزمایشگاه، میزان نشت یونی مرحله اول (EC_1) اندازه گیری شد. در ادامه جهت اندازه گیری نشت مرحله دوم (EC_2) لوله‌های آزمایش محتوی آب مقطر و قطعات برگ‌ها (به کار گرفته شده برای نشت مرحله اول)، اتوکلاو گردید (در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه). بعد از خروج (از اتوکلاو)، مجدداً لوله‌های آزمایش محتوی آب مقطر و قطعات برگ‌ها به مدت ۱۲ ساعت شیکر و سپس هدایت الکتریکی مرحله دوم ثبت و بر مبنای فرمول زیر نشت یونی محاسبه شد (۴۰).

$$EL = (EC_1/EC_2) \times 100$$

۲۱ روز پس از اعمال تنش سرما، میانگین قطر ساقه‌ها با استفاده از دستگاه کولیس دیجیتالی مدل Mitutoyo 500-754-10 اندازه گیری شد. صفات دیگری نظیر تعداد برگ و سطح برگ با دستگاه سطح برگ سنچ (Model Li-Cor- 1300, USA) اندازه گیری و ثبت شد.

وزن خشک نمونه‌ها نیز پس از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون با دمای ۷۵ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد (۲۷). درصد مقدار آب نسبی برگ (RWC) با استفاده از قطعات یک سانتیمتری برگ گیاهان و اندازه گیری وزن تر آن‌ها، قرار دادن در آب به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتیگراد و تعیین وزن اشباع و

همچنین میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیوشیمیایی اندازه گیری شده در گیاه تاج الملوک نشان داد تیمار دمایی بر تمام صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه گیری شده موثر بود ($p < 0.01$). اثرات ساده و متقابل تیمارهای مورد بررسی (تیمار دما و مالچ) بر دو صفت نشت الکترولیت و محتوای نسبی آب گیاه در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد. اثر متقابل دما و مالچ بر محتوای

پروکلین و کربوهیدرات کل موجود در برگ تاج الملوک اثر معنی دار نداشت، بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ گیاه در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود و در عدد شاخص کلروفیل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده در گیاه تاج الملوک تحت تأثیر مالچ‌های آلی در دماهای یخ-

زدگی

Table 1- ANOVA (mean squares) for morphological traits measured in *Aquilegia* sp. affected by freezing temperatures using organic mulches

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	قطر ساقه Stem diameter	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	سطح کل برگ Total leaf area	تعداد برگ Leaf number
Mulch	3	2.29ns	5.73**	2979953.83**	5.84*
Temperature	4	12.39**	10.77**	16875456.45**	23.26**
Mulch× Temp.	12	6.803**	0.396ns	2505955.01**	5.46*
Error	60	1.13	0.303	190446.85	2.30
CV (%)		12.37	17.68	13.79	20.83

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

ns, * and ** are no significant, significant at the 5 and 1% of probability level, Respectively.

صفات مورفولوژیک

وزن تر اندام‌های هوایی، قطر ساقه، سطح برگ،

تعداد برگ: تنش یخبندان منجر به کاهش صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده ۲۱ روز پس از اعمال تنش شد. به طوریکه در دمای ۰ درجه سانتیگراد میزان وزن تر هوایی، قطر ساقه، سطح کل برگ و تعداد برگ به ترتیب ۴/۱ گرم، ۹/۶ سانتیمتر، ۴۰۷۹ سانتیمتر مربع و ۷/۹ بود و پس از اعمال دمای ۲۰- درجه سانتیگراد این میزان به ۲، ۷/۴، ۱۵۵۳، ۵/۲ کاهش یافت. همچنین نتایج حاصل از اثرات متقابل مالچ و تیمار دمایی نشان داد با کاهش دما از ۰ به ۲۰- درجه سانتیگراد قطر ساقه، سطح برگ و تعداد برگ در تیمار مالچ سبوس به ترتیب ۴۲/۶، ۷۳/۴، ۲۱/۲٪، در مالچ سوزنی برگ ۶۴/۹، ۳۵/۲، ۴۷/۶٪، در مالچ کودی ۲۰/۱، ۴۶/۴، ۷/۸٪ و در شاهد مالچ ۳۲/۸، ۷۹، ۳۰/۷٪ کاهش یافت (جدول ۴). منطبق با نتایج فوق مطالعات بر گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*) نشان داد که وزن خشک برگ‌ها در دمای ۱۸- و ۲۰- درجه سانتیگراد به ترتیب به میزان ۶۶ و ۹۴ درصد در مقایسه با دمای صفر درجه سانتیگراد کاهش یافت (۱۱). در مطالعه اثر دماهای یخ زدگی بر وزن خشک گیاهان رازیانه نیز مشاهده شد که با کم شدن دما، وزن خشک گیاه کاهش یافت، به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتیگراد وزن گیاهان معادل ۱۴ درصد وزن خشک گیاهان شاهد بود (۳۳). عزیزی و همکاران (۲) کاهش وزن خشک گیاهان در دوره بازیافت را بدلیل اثر خسارت ناشی از یخ زدگی و کاهش توانایی رشد مجدد اندام‌های هوایی دانسته اند.

وزن خشک قرنفل به طور معنی‌داری تحت تأثیر دماهای یخ زدگی قرار گرفت و به طور کلی با تنزل دما کاهش یافت، به طوری که در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید (۲۴). در مطالعه اثر دما بر وزن خشک گیاه رازیانه نیز مشاهده شد که با کم شدن دما، وزن خشک گیاه کاهش یافت، به طوری که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد وزن گیاهان معادل ۱۴ درصد وزن خشک گیاهان شاهد بود (۳۴). اثر دماهای یخ زدگی بر تعداد گره در ساقه و تعداد برگ در گیاه قرنفل مورد بررسی قرار گرفت. طور کلی تا دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد، صفات ذکر شده تحت تأثیر دماهای یخ زدگی قرار نداشتند ولی با افزایش شدت سرما تعداد گره در ساقه و برگ در بوته کاهش یافت (۲۴). در مجموع به نظر می‌رسد هنگام مواجهه گیاه با تنش سرما، به دلیل آسیب بیشتر بافت‌ها در دمای پایین، میزان وزن خشک گیاه کاهش می‌یابد (۲۴). از طرفی طبق نتایج حاصل از پژوهش حاضر افزودن انواع مالچ‌های آلی منجر به بهبود صفات مورفولوژیک گیاه شد. گزارش شده است یک لایه سه تا شش سانتیمتری از مالچ‌های آلی مثل کاه، کلش سوزنی برگان و برگ‌های خرد شده می‌تواند گیاه را از خطر سرمازدگی حفظ کند (۲۳). همچنین گزارش شده است استفاده از خاکپوش‌های غیر زنده به دلیل افزایش مثبت دمای خاک (۱۹، ۶) به طور گسترده‌ای در کشاورزی رواج دارد و این خاکپوش‌ها در ارتفاع، رشد و گلدهی (۳۲)، زودرسی و عملکرد کل محصول (۳۷) موثر می‌باشند.

جدول ۲ - تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات فیزیوشیمیایی اندازه گیری شده در گیاه تاج الملوک تحت تاثیر مالچ‌های آلی در دماهای یخ-زدگی

Table 2 ANOVA (mean squares) for physiochemical traits measured in <i>Aquilegia</i> sp. affected by freezing temperatures using organic mulches.											
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	نشت الکترولیت Electrolyte leakage	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کربوهیدرات کل Total carbohydrate	پرولین Proline
Mulch	مالچ	3	444.03**	318.66**	32.23ns	0.028ns	0.028ns	0.013*	0.20ns	0.218**	0.30**
Temperature	دما	4	1570.52**	1265.45**	88.54**	0.077**	0.08**	0.034**	0.55**	0.228**	0.31**
Mulch× Temp	مالچ×دما	12	266.13**	169.35**	32.45**	0.028*	0.29*	0.013*	0.20*	0.001ns	0.001ns
Error	خطا	60	33.44	32.80	14.28	0.012	0.013	0.006	0.09	0.002	0.004
CV (%)	ضریب تغییرات		10.02	15.03	9.30	9.31	9.32	9.29	9.31	6.46%	6.54

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

ns, *and ** are no significant, significant at the 5 and 1% probability level respectively.

جدول ۳- اثرات ساده مالچ و تنش سرما بر صفات مورفولوژیک و فیزیوشیمیایی گیاه تاج الملوک
Table 3- Effects of mulch and cold stress on morphological and physiochemical traits of *Aquilegia* sp..

تیمارها Treatments	وزن تر اندام Shoot fresh weight (g plant ⁻¹)	نسبت الکترولیت leakage (%)	محتوای نسبی آب برگ Relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll (mg/gfw)	کلروفیل b Chlorophyll (mg/gfw)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/gfw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/gfw)	کربوهیدرات Carbohydrate (μmol/gfw)	پرولین Proline (μmol/gfw)
مالچ Bran	2.391c	68.68a	33.07c	a	a	0.78b	a	0.77c	0.734c
سوزنی برگ Needle leaf	3.02b	61.73bc	40.25ab	a	a	0.82ab	a	0.62d	0.966ab
دامی Manure	3.55a	57.36c	42.16a	a	a	0.78b	a	0.86a	1.016a
شاهد Control	3.48ab	63.96ab	36.92bc	a	a	0.83a	a	0.82b	0.916b
LSD	0.463	4.86	4.81			0.04		0.02	0.053
دما Temperature (°C)	-20	79.60a	23.83c	1.11c	1.13c	0.75c	2.99e	0.87a	1.028a
	-15	60.76b	38.33b	1.13bc	1.16bc	0.77bc	3.07d	0.86a	1.013a
	-10	60.67b	39.72b	1.23a	1.26a	0.83a	3.33b	0.80b	0.951b
	-5	52.93c	48.38a	1.20ab	1.23ab	0.81ab	3.25c	0.73c	0.863c
	0	60.72b	40.24b	1.28a	1.30a	0.86a	3.44a	0.58d	0.684d
LSD	0.51	5.43	5.38	0.07	0.08	0.05	0.06	0.03	0.59

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر صفت، در سطح ۱ درصد با استفاده از آزمون LSD دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.
Means with the same letters are not significantly different at 1% of probability using LSD test.

صفات فیزیوشیمیایی

نشت الکترولیت، محتوای آب نسبی: با کاربرد مالچ‌های

سوزنی و دامی نشت الکترولیت از ۶۳/۹ درصد در شرایط شاهد به ۶۱ و ۵۷ درصد رسید. به عبارتی و کمترین نشت الکترولیت در کاربرد مالچ کود دامی مشاهده شد. از طرفی با پایین آمدن دما از ۰ به ۲۰- درجه سانتیگراد درصد نشت الکترولیت برگ‌های تاج الملوک زیاد شد به طوریکه در شدیدترین تنش اعمال شده (۲۰- درجه سانتیگراد) میزان این صفت ۷۹ درصد بود (جدول ۳). بررسی اثر متقابل مالچ و دما نشان داد بیشترین نشت الکترولیت در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد و با کاربرد مالچ سبوس (۹۳ درصد) و پس از آن در همین دما و در شرایط عدم کاربرد مالچ بود (جدول ۴). شاخص‌های متعددی برای ارزیابی سریع و مؤثر گیاهان در مواجهه با تنش یخ زدگی بررسی شده است، از جمله این شاخص‌ها، نشت الکترولیت‌ها بوده که بر اساس خسارت‌های ناشی از یخ زدگی بر غشاء سلول اندازه‌گیری می‌شود (۹). غشا سلولی اولین مکان خسارت در اثر سرما است و این امر منجر به تغییر وضعیت غشا از حالت کریستال مایع به حالت جامد-ژل می‌شود و به دنبال آن فعالیت غشا مختل می‌گردد. بنابراین اختلال در فعالیت غشاهای سلولی در اثر تنش سرما، سبب نشت الکترولیت‌ها از سلول شده و اندازه‌گیری میزان نشت از بافت‌های تحت تنش می‌تواند معیار قابل قبولی برای سنجش مقاومت به تنش سرما باشد (۱۰). رابطه مستقیمی بین میزان نشت الکترولیت‌های سلول و تحمل گیاهان به تنش یخ زدگی مشاهده شده است. یوگنیا و همکاران (۱۶) نیز با ارزیابی میزان مقاومت گیاه *Trifolium hirtum* به تنش یخ زدگی نشان دادند که با کاهش دما از ۶- به ۱۴- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش یافت. نظامی و همکاران (۳۱) در بررسی اثر تنش یخ زدگی بر نشت الکترولیت‌های ده رقم کلزا گزارش کردند که با کاهش دما به کمتر از ۴- درجه سانتیگراد درصد نشت الکترولیت‌ها به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد.

محتوای نسبی آب برگ در دمای ۰ درجه سانتیگراد ۴۰/۲۴

درصد اندازه‌گیری شد و در دمای ۱۵- و ۲۰- به ترتیب به ۳۸ و ۲۳ درصد رسید. در شرایط عدم استفاده از مالچ، محتوای آب نسبی ۳۶ درصد بود و با کاربرد مالچ‌های دامی و سوزنی به ترتیب به ۴۲ و ۴۰ درصد رسید. در شرایط استفاده از مالچ کود دامی درصد محتوای آب نسبی برگ در دمای ۰ درجه سانتیگراد ۵۳ درصد بود و در دمای ۵- درجه سانتیگراد به ۵۰ درصد و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به ۱۸ درصد رسید. با توجه به تجمع قندها و سایر مواد به منظور افزایش فشار اسمزی این کاهش قابل توجیه می‌باشد. به طور کلی کاهش مقدار آب در گیاه احتمال تشکیل یخ و خسارت ناشی از آن را کاهش می‌دهد. یکی از اولین رخدادهای مقاوم سازی گیاه در برابر سرما

کاهش نسبت آب بافت به وزن خشک می‌باشد (۲۹).

شاخص کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل،

کارتنوئید: بررسی اثر ساده تنش یخبندان بر رنگرزه‌های فتوسنتزی تاج الملوک نشان داد سرما منجر به کاهش شاخص کلروفیل، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید شده است. به طوریکه تحت تنش شدید یخبندان ۲۰- درجه سانتیگراد مقدار کلروفیل کل ۱۳ درصد نسبت به دمای صفر درجه سانتیگراد کاهش یافت. شاخص کلروفیل در دمای ۰ درجه سانتیگراد و در مالچ سبوس ۴۶ بود و در همین تیمار مالچی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ۲۴ درصد نسبت به شاهد دما کاهش داشت. همچنین مقدار کلروفیل کل در مالچ دامی و در دمای ۰ درجه سانتیگراد ۳/۳۷ میلی گرم بر گرم وزن تر اندازه‌گیری شد و در همین تیمار مالچی و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به ۲/۷۵ میلی گرم بر گرم وزن تر رسید (جدول ۴). در توضیح نتایج فوق می‌توان گفت در زمان تنش سرما انتقال الکترون به گیرنده اصلی آن ($NADP^+$) مختل گردیده، در نتیجه الکترون به اکسیژن منتقل می‌شود. در این زمان بالا بودن کلروفیل باعث افزایش ترکیبات اکسیژن‌دار فعال (ROS) می‌گردد، که این ترکیبات بسیار واکنشگر بوده و برای سلول اثرات سمی دارد و همچنین باعث تخریب کلروپلاست می‌شود. یکی از راهکارهای مقابله گیاهان افزایش سنتز کلروفیل‌هاست که به دنبال آن باعث کاهش در میزان کلروفیل می‌گردد (۱). منطبق با نتایج فوق کاهش میزان کلروفیل در دو رقم چمن پوآ و پاسپالوم به عنوان گیاه پوششی تحت تنش سرمای ۵- درجه سلسیوس مشاهده شد (۶).

محتوای پرولین و کربوهیدرات کل: با اندازه‌گیری

کربوهیدرات کل موجود در برگ تاج الملوک مشاهده شد تحت تنش یخبندان میزان این صفت افزایش یافته است به طوریکه در دمای ۱۵- و ۲۰- برابر ۰/۸۶ و ۰/۷۷ میلی گرم در هر گرم وزن تر بود. در بین مالچ‌های استفاده شده نیز گیاهان تیمار شده با مالچ کود دامی کربوهیدرات بیشتری داشتند. گیاهان در مقابله با سرما مکانیسم‌های دفاعی مختلفی دارند، که یکی از آن‌ها تجمع بعضی ترکیبات از قبیل قندها و اسیدهای آمینه می‌باشد. افزایش این مواد باعث حفظ فشار اسمزی می‌گردد و همچنین باعث تثبیت ساختار پروتئین می‌گردد و از تخریب غشای سلولی جلوگیری می‌کند (۲۹). به طور کلی افزایش محتوای قند برگ را می‌توان به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مناسب برای مقاومت به سرما در نظر گرفت (۲۲). با توجه به نتایج حاصل از جدول ۳ افزایش دمای یخبندان منجر به افزایش پرولین شد به طوریکه در دمای ۵- درجه سانتیگراد مقدار این صفت در برگ ۲۶ درصد و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ۵۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت.

جدول ۴- اثرات متقابل مالچ × تنش سرما بر صفات مورفولوژیک و فیزیوشیمیایی گیاه تاج الملوک
Table 4- Interaction effects of mulch × cold stress on morphological and physiochemical traits of *Aquilegia* sp. plant.

دما Temp. (°C)	قطر ساقه Stem diameter (cm)	مساحت کل برگ Total leaf area (cm ²)	تعداد برگ Leaf number	نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	محتوای نسبی آب برگ Relative water content (%)	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/gfw)	کلروفیل b Chlorophyll b (mg/gfw)	کارتنوئید Carotenoid (mg/gfw)	کلروفیل کل Total Chlorophyll (mg/gfw)
سبوس Bran	-20	5.97g	1227.19g	6.50d-i	93.32a	16.81i	1.04gh	1.06ef	0.70fg	2.79j
	-15	7.17e-g	2466.02f	5.75f-i	61.27b-f	34.50d-h	1.18b-g	1.21b-e	0.80b-f	3.19f-h
	-10	9.55a-d	2907.31def	7.75b-f	55.43e-h	32.37gh	1.26a-d	1.29a-c	0.85a-d	3.41cd
	-5	9.63a-c	3536.41cde	8.00b-e	49.88gh	43.79a-f	1.24a-d	1.27a-c	0.84a-d	3.36c-e
	0	10.41ab	4619.66ab	8.25b-e	48.75gh	36.68c-h	1.36a	1.39a	0.92a	3.68a
سوزنی برگ Needle leaf	-20	6.17fg	1473.50g	5.50g-i	66.94b-d	33.05f-h	1.06e-h	1.08d-f	0.72e-g	2.86j
	-15	8.32c-e	2875.22ef	7.00c-g	61.22b-f	38.73b-g	1.13d-h	1.15c-f	0.76d-g	3.05i
	-10	8.56b-e	3611.61cde	8.00b-e	66.71b-d	32.53gh	1.20b-f	1.23b-d	0.81a-e	3.25e-g
	-5	9.64a-c	3861.61bc	8.00b-e	58.33c-g	46.93a-c	1.20b-f	1.23b-d	0.81b-f	3.24e-h
	0	9.53a-d	4180.83abc	10.50a	66.61b-d	33.38e-h	1.21a-e	1.24a-d	0.82a-e	3.27ef
دامی Manure	-20	7.70c-g	2497.45f	8.75abc	68.66bc	18.01i	1.02h	1.04f	0.69g	2.75j
	-15	7.49e-g	2972.63def	7.50b-g	56.09d-h	36.18c-h	1.06f-h	1.08d-f	0.71e-g	2.86j
	-10	7.97c-f	3709.61cd	7.50b-g	50.56f-h	44.56a-d	1.32ab	1.35ab	0.89a-c	3.57ab
	-5	8.91b-e	4613.27ab	8.50a-d	47.32h	50.11a	1.15c-h	1.18c-f	0.78c-g	3.12ghi
	0	9.64a-c	4664.86ab	9.50ab	64.19b-e	53.61a	1.25a-d	1.27a-c	0.84a-d	3.37cde
شاهد Control	-20	7.62d-g	1015.00g	4.50i	89.49a	27.47hi	1.32ab	1.35ab	0.89ab	3.57ab
	-15	8.73b-e	1604.73g	4.75hi	64.46b-e	37.31c-h	1.18b-g	1.20b-e	0.79b-g	3.18f-i
	-10	8.83b-e	2908.35def	6.25e-i	69.96b	43.90a-e	1.15c-h	1.17c-f	0.78d-g	3.11hi
	-5	8.99b-e	3680.52cde	6.75c-h	56.20d-h	49.43ab	1.22a-d	1.24a-c	0.83a-d	3.30d-f
	0	11.35a	4864.28a	6.50d-i	63.32b-e	52.67a	1.28a-c	1.31a-c	0.87a-d	3.46bc
LSD	2	820.9	2.14	10.88	10.77	7.10	0.15	0.16	0.10	0.13

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر صفت، در سطح ۱ درصد استفاده از آزمون LSD دارای تفاوت معنی‌داری نیستند.
Means with the same letters are not significantly different at 1% of probability using LSD test.

الکترولیت و تجمع اسید آمینه پرولین و کربوهیدرات در بافت برگ گیاه تاج الملوک شد. ضمن اینکه با اندازه گیری صفات مورفولوژیک گیاه پس از گذشت سه هفته از وقوع تنش های دمایی و آغاز رشد مجدد گیاه کاهش تعداد برگ، سطح برگ و قطر ساقه صورت تدریجی رو به کاهش گذاشت. در بین مالچ‌های استفاده شده مالچ کود دامی تاثیر بیشتری بر بهبود اثرات ناشی از سرما بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه داشت.

سپاسگزاری

بدینوسیله از واحد ویژه خدمات تخصصی علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد بابت تامین هزینه‌های این پژوهش قدردانی می‌گردد.

همچنین کمترین مقدار پرولین (0.73 میکرومول بر گرم وزن تر) در گیاهان تحت تیمار با مالچ سبوس بود. به منظور حفظ یکپارچگی غشاء، پرولین به عنوان یک ماده حفاظت کننده با برهمکنش آنزیم‌ها از تغییر شکل پروتئین‌ها جلوگیری کرده و به دنبال آن از تخریب غشاء جلوگیری می‌کند (30). بیژنی و همکاران (6) گزارش کردند بیشترین میزان قندهای محلول در چمن پوآ و در دمای -5 درجه سلسیوس مشاهده گردید که نسبت به شاهد (دمای 25 درجه سانتیگراد) 42 درصد افزایش داشت. مطالعه بر روی دو رقم چمن نشان داد در دمای -5 درجه سانتیگراد میزان پرولین نسبت به دمای 25 درجه سانتیگراد 122 درصد افزایش داشته است (6).

نتیجه گیری کلی

به طور کلی تنش بخندان تا دمای -20 منجر به افزایش تشت

منابع

- Adeniyi O. T., Akparobi S. O., and Ekanayake, J. 2004. Field studies on chlorophyll a fluorescence for low temperature tolerance testing of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Food, Agriculture and Environment, 2(1): 166-170.
- Azizi, H., Nezami, A., Nasiri Mahalati, M., Khazaei, H.R., 2007. Evaluation of freezing tolerance of wheat cultivars under controlled conditions. Journal of Iranian Field Crops Research, 6(1), 109-119. [In Persian with English Summary].
- Badaruddin M., Reynolds M. P., and Ageeb O. A. A. 1999. Wheat management in warm environments: Effect of organic and inorganic fertilizers, irrigation frequency and mulching. Agronomy Journal, 91, 975-983.
- Bagheri A., Nezami A., and Soltani, M. 2000. Breeding cold-blooded beans to tolerate stress (translation). Agricultural Research, Training and Promotion Organization. P 446.
- Bates. L. S., Waldran. R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil, 39:205-208.
- Bizhani Sh., Salehi H., Jokar A., and Daneshmand B. 2013. Cold tolerance and antioxidant response of Chaman Poa and Papalom. Journal of Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products, 5(17): 229-237.
- Bonachela S; (Granados, M.R, López, J.C, Hernández, J, Magán, J.J, Baeza, E.J and Baille, A). 2012. How plastic mulches affect the thermal and radiative microclimate in an unheated low-cost greenhouse. Agricultural and Forest Meteorology, 152, 65-72.
- Bowker, M. (Edinger, Philip).1989. "Lawn and Grand Covers".Sunset publishing.
- Cardona C.A., Duncan R.R., and Lindstrom O. 1997. Low temperature tolerance assessment in Paspalum. Crop Science, 37:1283-1291.
- Cardona C.A., Duncan R.R., and Lindstrom O. 1997. Low temperature tolerance assessment in Paspalum. Crop Science. 37: 1283-1291.
- Dashti M., Kafi M., Tavakoli H., Mirza M., and Nezami A. 2013. Effects of freezing stress on Morpho-physiological indices and chlorophyll fluorescence of Salvia leriifolia Benth. Seedlings.Journal of Plant Researches. 28(5): 962-973.
- Dere S., Gunes T., and Sivaci R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. American Journal of Botany, 22: 13-17.
- Dubois D., Gilleres K.A., and Hamilton J.K. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 350-356.
- Dunn J. H., Bughrara S. S., Warmund M. R., and Fresenburg B. F. 1999. Low temperature tolerance of zoysia grasses. Horticulture Science 34: 96-99.
- Duryea Marry L; (English, R. Jeffery and Hermansen, L. Annie). 1999. "A Comparison of Landscape Mulches: Chemical, Allelopathic, And Decomposition Properties". Journal of Arboriculture, 2, 88-97.

16. Eugenia M., Nunes S., and Ray Smith G. 2003. Electrolyte leakage assay capable of quantifying freezing resistance in rose clover. *Crop Science* 43: 1349-1357.
17. Farahmand H., Sarcheshme pour M., Safari R., and Nazari F., 2011. Reduction of evaporation using mulch in green space. Eleventh General Irrigation Seminar and Evaporation Reduction.
18. Fry J. D., Lang N. S. and Clifton R. G. P. 1991. Freezing resistance and carbohydrate composition of 'Floritam' St. Augustinegrass. *Horticulture Science*, 26: 1537-1539.
19. Ghasemi Ghahsare M., and Kafi M. 2015. Scientific and practical flowering
20. Ghosh P.K; (Dayal, Devi, Bandyopadhyay, K.K and Mohanty M). 2006. "Evaluation of straw and polythene mulch for enhancing productivity of irrigated summer groundnut". *Field Crops Research*, 99, 76–86.
21. Griesbach R.J., and Berberich S.M. 1995. The early history of research on ornamental plants at the U S. Department of Agriculture from 1862 to 1940. *Horticultural Science* 30: 421–425.
22. Griffith M., and Yaish M. W. F. 2004. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends in Plant Science*, 9: 399-405.
23. Hajo Hosseini A., Javad Pour Y., and Razavi M. 2011. Frostbite in agriculture and ways to control it. *Technical and Promotional Journal of Yazd Province Agricultural Organization*. 3-19.
24. Izadi darbandi E., Yosef sani M., Nezami A., Musavi M.J., Keikha F., and Nezami S. 2012. Effect of freezing stress on *Dianthus barbatus*. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 4(2):117-125.
25. Jodaugienė D., Pupalienė R., Sinkevičienė A., Marcinkevičienė A., Žebrauskaitė M. Baltaduonytė K., and Čepulienė R. 2010. The influence of organic mulches on soil biological properties. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97 (2): 33-40
26. Lies Jeffery.K; (Dosmann, Michael.S). 1999. "Effect of organic and mineral mulches on soil properties and growth of Fairview Flame® red maple trees". *Journal of Arboriculture*, 3, 163-167.
27. Malek M.M., Galeshi S., Zeinali A., Ajam N., and Malek M. 2012. Investigation of leaf area index, dry matter and crop growth rate on the yield and yield components of soybean cultivars. *Electronic Journal of Crop Production*, 5(4):1-17.
28. Mir Mohammadi A.M. 2005. Physiological and breeding aspects of cold and frost tensions in crops. Gulben Publishing House of Isfahan.
29. Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25: 239–250.
30. Naidu B. and Thusitha G. 2005. Increasing cold tolerance in rice by selecting for high polyamine and gibberellic acid content. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 793-800.
31. Nezami A., Borzooei A., Jahani M., Azizi M., and Sharif A. 2007. Electrolyte leakage as an indicator of freezing injury in colza (*Brassica napus* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research*. 5: 167-175
32. Ramakrishna A.; (Tam, Hoang Minh, Wani, Suhas.P and Lomg, Tranh Dinh). 2006. Effect of mulch on soil temperature, moisture, weed infestation and yield of groundnut in northern Vietnam. *Field Crops Research*, 95, 115–125.
33. Rashed Mohassel M.H., Nezami A., Bagheri A., Haj Mohammadnia K., Bannayan M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel ecotypes under controlled conditions. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 15(1): 131-140.
34. Rashed Mohassel M.H., Nezami A., Bagheri A., Haj Mohammadnia K., Bannayan M. 2009. Evaluation of freezing tolerance of two fennel ecotypes under controlled conditions. *Journal of Herbs Spices Medicinal Plants*, 15, 131-140.
35. Roe N. E., Stofella J., and Ggreatz D. 1997. Compost from various municipal solid wastes feed stocks affect vegetable crops, II Growth, yield and fruit quality. *J. ASHS*. 122: 433-437.
36. Shaikh A. El., and Fouda T. 2008. Effect of different mulching types on soil temperature and cucumber production under Libyan conditions.
37. Shooshtarian S., A., Salehi H., and Tehrani far A. 2011. Study of the growth and development characteristics of ten plant species in the Kish Island green area during the warm season. *Journal of Agroecology*, 4:514-524.
38. Smartt J. 1994. The groundnut crops. A scientific basis for improvement. London. Chapman and Hall. pp: 734-735
39. Steward Larry G; (Davis Sydnor, T and Bishop, Bert). 2003. "The ease of ignition of 13 landscape mulches". *Journal of Arboriculture*, 6, 317-321.
40. Teutonica R. A., Palta J.P., and Osborn T. C. 1993. *In vitro* freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. *Crop Science*, 33: 103-107.
41. Warmund R.M., Guinan P., and Fernandez G. 2008. Temperatures and cold damage to small fruit crops across the eastern United States associated with the April 2007 freeze. *Horticultural Science* 43: 1643-1647.
42. Zhang G.S. (Hu, X.B, Zhang, X.X and Li, J.C). 2013. Effect of plastic mulch and winter catch crop on water availability and vegetable yield in a rain-fed vegetable cropping system at mid-Yunnan plateau, China. *Scientia Horticulturae*, 164, 333-339. 5(4):1-17.



Effect of some Organic Mulches on Cold Resistance of *Aquilegia* sp.

Y. Selahvarzi^{1*} - M. Kamali² - J. Nabati³ - H. Ahmadpourmir⁴

Received: 31-07-2019

Accepted: 15-12-2019

Introduction: Each year, with the onset of cold season and severe drop in temperature, the probability of frost bite and frost damage is a problem for landscaping plants. Many plant species, especially tropical and subtropical species, are damaged when exposed to frostbite, causing damage to their cells, tissues, and organs. Research has shown that by altering membrane properties during cold stress, metabolic balance is disturbed and with the increase in toxic metabolites, secondary damage to the plant can occur. At low temperature, decreases the efficiency of energy transfer to the center of the photosystem II. In addition, low temperatures are the main cause of the formation of reactive oxygen radicals. Also, lowering the temperature in the presence of light, due to the imbalance between light absorption and photosynthesis, increases the risk of light oxidation. Low temperature also reduces the activity of Rubisco. The amount of free proline in many plants increases significantly in response to environmental stresses such as frost stress, and stabilizes the membrane during cold stress. On the other hand, the use of some organic materials such as organic mulches increase temperature of the soil, and thus helps plant from frostbite. Use of organic mulch is widespread in agriculture due to the positive effect in soil temperature, weed control and moisture retention. Also, these mulches are effective in height, growth and flowering, early maturity and total yield of the products. Mulches in the warm seasons reduces soil temperature. Use of mulch can also help plants to withstand frostbite. Organic mulch decomposition in appropriate temperature and humidity conditions, liberates the nutrients gradually and provides for root plant and microorganisms of the soil. Organic mulches can reduce the effect of salt toxicity on plant growth and actively increase soil desalination. The most important benefit of mulch is the increase in soil temperature in the seed area, which accelerates the growth and yield of the product. Use of straw as mulch resulted in accelerated germination in cucumber. Use of straw mulch leads to an increase in temperature at night, thus protecting plants from temperature stress that has a positive effect on the growth and development of wheat.

Material and methods: In order to investigate the effect of freezing stress and using different types of organic mulch for *Aquilegia* plant, this experiment was conducted as a factorial experiment based on completely randomized design with four replications at Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad. The experimental treatments included four types of mulch (control (without mulch), 50% soil + 50% manure, 50% soil + 50% leaf needle + 50% soil + 50% rice bran) and five levels of freezing temperature (0, -5, -10, -15 and 20). Characteristics such as percentage of electrolyte leakage, relative water content, chlorophyll index and total chlorophyll, leaves number, leaf area, plant dry weight and proline leaf content were considered.

Results and Discussion: The results showed with decrease of temperature from 0 to -20 °C, stem diameter, leaf area and leaf number in bran mulch treatment decreased by 42.6%, 73.4%, 21.2% respectively, also stem diameter, leaf area and leaf number in mulch of leaf needle were 35.2%, 9/64%, 47.6%, in manure mulch were 20.20%, 46.4%, 7.8% and in the control of mulch decreased, 32.8%, 79.7%, 30.7%, respectively. At -5 °C, the amount of proline was 26% in the leaf and at -20°C, the amount of proline increased 50% compared to the control. Also, the lowest proline (0.73 μmol / g fresh weight) was obtained from the plants that treated with bran mulch. With application of, electrolyte leakage reached 63.6%, 68%, 61% and 57% in control conditions bran, needle and manure, respectively. In short, the least electrolyte leakage was observed in manure. On the other hand, when temperature dropped from 0 to -20 °C, the percentage of electrolyte leakage increased in *Aquilegia*. Relative water content of the leaf were 24% at 0°C, 38% at -15 °C and 23% at -20 °C. In terms of non-use of mulch, the relative water content was 36% and reached a 42% and 40% with application of manure and needle using mulch. By measuring the total carbohydrate found in *Aquilegia* leaf, it was observed that the amount of

1, 2 and 4- Assistant professor, Ph.D Graduated and M.Sc. student, Horticulture department, Ferdowsi University of Mashhad

3- Assistant professor, Institute of Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad

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

this trait was increased under frost stress. In general, although frost stress reduced the morphological traits of *Aquilegia*, use of organic mulch resulted in the improvement of these traits. The best results were observed in manure mulch.

Keywords: Carbohydrate, Dry weight, Electrolyte leakage, Proline, Total chlorophyll



اثر اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنیل آلانین آمونیا لایز و ترکیبات فنلی در استویا

سیده فاطمه رسولی^{۱*} - منوچهر قلی پور^۲ - کامبیز جهان‌بین^۳ - حمیدرضا اصغری^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۹/۱۳

چکیده

اسید سالیسیلیک و جاسمونات‌ها به عنوان ترکیبات پیام‌رسان کلیدی در فرآیند القا که منجر به تجمع متابولیت‌های ثانویه می‌شود بسیار مورد توجه می‌باشند. محلول‌پاشی با این ترکیبات باعث القا تنش کاذب و برانگیخته شدن پاسخ‌های دفاعی در گیاه شده و بدنبال آن تولید متابولیت ثانویه افزایش می‌یابد. این آزمایش به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر پراکسید هیدروژن، هدایت الکتریکی، فعالیت آنزیم‌های GST، GPX، فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)، غلظت فنل کل، فلاونوئید و آنتوسیانین در استویا در شرایط مزرعه‌ای انجام شد. آزمایش حاضر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک، اسید سالیسیلیک و ترکیب تیماری از هر دوی آنها بود. محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک و جاسمونیک غلظت پراکسید هیدروژن را در بیشتر تیمارها نسبت به شاهد افزایش داد؛ بیشترین غلظت پراکسید هیدروژن در تیمار ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با غلظت ۵/۴۶ میکرومول در بافت تر مشاهده شد؛ گیاه در پاسخ به محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPX و GST را در اغلب تیمارها افزایش داد؛ بیشترین میزان فعالیت آنزیم GPX در تیمارهای ۵ میکرومولار اسید جاسمونیک و تیمار ترکیبی ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۰/۱۴۴ و بیشترین میزان فعالیت آنزیم GST در تیمارهای ۵ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۵/۰ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۰/۳۵ میکرومول بر دقیقه بر گرم بافت تر مشاهده شد؛ به دنبال افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی میزان هدایت الکتریکی در بیشتر تیمارها (۱۰ تیمار) کمتر از شاهد بود؛ کمترین میزان هدایت الکتریکی در تیمار ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۴۰ درصد مشاهده شد. محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک فعالیت آنزیم PAL را در تیمارهای ترکیبی بیشتر افزایش داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم PAL در تیمار ۵۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. بیشترین میزان غلظت فنل کل و فلاونوئید در تیمار ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک غلظت آنتوسیانین را در تمام تیمارهای ترکیبی افزایش داد. محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک توانست غلظت ترکیبات فلاونوئیدی را به عنوان یکی از ترکیبات مهم استویا افزایش دهد. نکته قابل توجه آن است که در بیشتر صفات، تیمارهای ترکیبی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک تأثیر بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم PAL، غلظت فنل کل، فلاونوئید و آنتوسیانین داشتند.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، فلاونوئید، GST، GPX

مقدمه

گیاهانی است که در دهه‌های اخیر به دلیل وجود ترکیبات شیرین‌کننده‌ای که در این گیاه وجود دارد، از نظر دارویی و اقتصادی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. گلیکوزیدهای استویا ۳۵۰ برابر شیرین‌تر از ساکارز هستند (۱۲). این ترکیبات طبیعی از شیرین‌کننده‌های طبیعی بدون کالری می‌باشند که با توجه به مشکلات روزافزون ناشی از دیابت، چاقی، سکنه‌های قلبی و مغزی استویا می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای تغذیه نامطلوب و مشکلات ناشی از مصرف قند باشد (۱).

یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه

Stevia rebaudiana bertonii گیاهی علفی، چند ساله از خانواده Asteraceae و بومی پاراگوئه می‌باشد. استویا یکی از

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری اکولوژی گیاهان زراعی و دانشیاران گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

(*) - نویسنده مسئول: (Email: f.rasouli86@gmail.com)

۳- دانشیار گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.81571

استفاده از الیستورها است. الیستورها مواد شیمیایی یا عوامل زیستی مختلفی هستند که می‌توانند تغییرات فیزیولوژیکی و تجمع فیتوالکسین‌ها (phytoalexin) را در گیاه القا کنند (۳۱). استفاده از اسید سالیسیلیک (۲۵، ۲۶ و ۳۱) و جاسمونات‌ها (الیستور شیمیایی) به عنوان ترکیبات پیام‌رسان کلیدی در فرآیند القا، برانگیخته شدن پاسخ‌های دفاعی و افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه بسیار مورد توجه می‌باشند (۳۱ و ۳۲). این مولکول‌های پیام‌رسان در برخی از مسیرهای انتقال پیام که القا کننده آنزیم‌های خاص کاتالیزکننده واکنش‌های بیوسنتزی برای تشکیل ترکیب‌های دفاعی مثل پلی‌فنل‌ها، آلکالوئیدها یا پروتئین‌های مربوط به پاتوژن هستند، دخالت می‌کنند و منجر به القای واکنش‌های دفاعی می‌شوند (۳۱). مطالعات متعددی بر نقش این دو هورمون بر میزان میزان متابولیت‌های ثانویه صورت گرفته است، در گیاه کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) تحت اثر متیل جاسمونات و اسید سالیسیلیک در شرایط درون شیشه‌ای گزارش شده است که تغییرات فعالیت آنزیم PAL، محتوای فنلی و فلاونوئید تحت تأثیر نسبت‌های مختلف متحرک قرار داشته و نسبت به هم همبستگی نشان دادند و بیان گر نقش PAL در تولید ترکیبات فنیل پروپانوییدی بود (۲۸). تیمار با متیل جاسمونات بعد از ۴۸ ساعت در گیاهچه‌های ۴ برگی سبب افزایش ۸۰ درصدی فعالیت آنزیم PAL و تجمع اسیدهای فنولیک گردید (۳). متیل جاسمونات در میوه‌های گوا (*Psidium guajava*) باعث افزایش فعالیت آنزیم PAL شد، اما مقدار فنل کل را تحت تأثیر قرار نداده بود (۳۱). افزایش در غلظت فلاونوئیدها از کالوس گیاه *Thevetia Peruviana* در پاسخ به ترکیبی از ۱۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک گزارش شده است (۲۱). تحریک فعالیت آنزیم PAL و تجمع ترکیبات فنلی هشت ساعت بعد از اعمال با اسید سالیسیلیک بر بافت سلولی گیاه *Salvia miltiorrhiza* گزارش شده است، همچنین گزارش شد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، POD و CAT بعد از اعمال تیمار با اسید سالیسیلیک به شدت بهبود یافت، اثر تحریک‌کنندگی اسید سالیسیلیک بر تجمع ترکیبات فنلی در غلظت ۵ mg/L - ۲۲-۶/۲۵ بود، همچنین بین فعالیت آنزیم PAL و تجمع ترکیبات فنلی همبستگی وجود داشت (۱۰). در یک پژوهش به منظور بررسی اثر اسید سالیسیلیک و جاسمونیک بر آنزیم‌های محرک تنش اکسیداتیو، دفاعی و برخی مواد موثره، عملکرد و اجزای عملکرد در سرخارگل در شرایط مزرعه‌ای گزارش شده است که محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر صفات اندازه‌گیری شده با اطمینان ۹۹ درصد اثرگذار بوده است. محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز را در بیشتر تیمارها افزایش داد. فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از

جمله SOD در بیشتر تیمارها افزایش یافت. میزان ترکیبات غیرآنزیمی از جمله فنل کل، فلاونوئید، و آنتوسیانین نیز در اغلب تیمارهای سرخارگل افزایش یافت. این ترکیبات که ترکیباتی فنیل پروپانوییدی می‌باشند به موازات افزایش آنزیم PAL افزایش یافتند (۲۷). بنابراین این پژوهش به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، PAL و تغییرات ترکیبات فنلی در استویا در شرایط بدون تنش، به صورت مزرعه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات خاک محل اجرای آزمایش: این آزمایش در یک

باغ در شهرستان امل در سال ۱۳۹۶ اجرا شد. قبل از انجام آزمایش از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک مزرعه نمونه‌برداری شده و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در آزمایشگاه تعیین گردید. بر این اساس خاک مزرعه دارای بافت خاک سیلتی‌رسی، کربن آلی خاک ۲/۱۶ درصد، فسفر قابل جذب ۱۳/۵۴ پی‌پی‌ام، پتاسیم قابل جذب ۲۰۰ پی‌پی‌ام، نیتروژن کل ۰/۱۲ درصد، pH = ۷ و EC = ۰/۷ دسی‌زیمنس بر متر بود.

اجرای طرح آزمایشی: آزمایش حاضر در قالب طرح بلوک‌های

کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک (Sigma Jasmonic acid, 77026-92-7)، اسید سالیسیلیک (Merck Ssalicylic acid, K19363231) و محلول‌پاشی هر دوی آن‌ها بعد از استقرار گیاه، شروع و در سه نوبت تکرار گردید.

تیمارهای آزمایشی شامل تیمار ۱: شاهد، ۲: 5ja (۵ میکرومولار اسید جاسمونیک)، ۳: 20ja (۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک)، ۴: 50ja (۵۰ میکرومولار اسید جاسمونیک)، ۵: 0.5 sa (۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۶: 1sa (۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۷: 5ja-0.5sa (۵ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۸: 5ja-1sa (۵ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۹: 20ja-0.5 sa (۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۱۰: 20ja-1sa (۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک)، ۱۱: 50ja-0.5sa (۵۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک) و ۱۲: 50ja-1sa (۵۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک). تیمارهای آزمایشی در جدول یک نشان داده شده است.

جدول ۱- تیمارهای آزمایشی محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک

Table 1. Experimental treatments of Jasmonic and salicylic acid foliar application.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
C	5ja	20ja	50ja	0.5sa	1sa	5ja-0.5sa	5ja-1sa	20ja-0.5sa	20ja-1sa	50ja-0.5sa	50ja-1sa

حجم ۳ میلی‌لیتر شامل ۲/۷ میلی‌لیتر بافر فسفات ۲۵ میلی‌مولار با pH = ۶/۸، گایاکول ۰/۶ مولار (۱۰۰ میکرولیتر)، عصاره آنزیمی (۱۰۰ میکرولیتر)، آب اکسیژنه ۱/۲ مولار (۱۰۰ میکرولیتر)، بود. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. بلانک فاقد آب اکسیژنه بود. افزایش جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر در ۱ دقیقه‌ی اول بعد از افزودن آب اکسیژنه اندازه‌گیری شد. در نهایت فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تراکایاکول تشکیل شده ضریب خاموشی (ε) برابر با $26/6 \text{ m M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

استخراج عصاره‌ی گلوتاتیون S – ترانسفراز (GST): جهت

استخراج عصاره آنزیم از روش (۴) همراه با تغییراتی استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم GST: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به روش (۶) صورت گرفت. مخلوط واکنش به حجم ۱ میلی‌لیتر شامل ۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر با ۶/۵ (۸۷۰ میکرولیتر)، گلوتاتیون احیا شده (GSH) ۳/۶ میلی‌مولار (۵۰ میکرولیتر)، ۱-کلرو، ۲ و ۴-دی نیترو بنزن یک میلی‌مولار (۵۰ میکرولیتر) و عصاره بود (۳۰ میکرولیتر) بود. افزایش جذب نور در طول موج ۳۴۰ نانومتر و ضریب خاموشی (ε) برابر $9/6 \text{ m M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. از فعالیت آنزیم در ۱ دقیقه اول برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید.

استخراج و اندازه‌گیری آنزیم PAL: سنجش آنزیم PAL بر

طبق روش (۱۷) انجام شد. ۰/۰۵ گرم از بافت تر در ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات پتاسیم ۸ pH) هموژن گردید. سپس هموژن در دمای 4°C ، سرعت ۱۴۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. برای سنجش فعالیت آنزیم، ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده، ۲۰۰ میکرولیتر فنیل‌آلانیل ۰/۱ مولار در بافر فسفات پتاسیم با اسیدیته ۸ و ۶۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با اسیدیته ۸ اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در دمای 37°C که اوج فعالیت PAL است قرار داده شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از 6 HCl مولار برای غیرفعال کردن PAL به مخلوط اضافه شد. شست و شوی نمونه با ۳ میلی‌لیتر اتیل استات انجام گردید. سپس نمونه در جریان هوا تبخیر و به رسوب حاصل یک میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۰۵ مولار اضافه شد. غلظت سینامیک اسید با اندازه‌گیری مقدار جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و به کمک استاندارد اسید سینامیک تعیین شد. یک واحد از PAL برابر با یک میکروگرم از اسید سینامیک تولید شده در ساعت است.

مراقبت زراعی: در این مطالعه، نشا چهل روزه گیاه استوبا (*Stevia rebaudiana (Bertoni)*) از شرکت گل‌ساران شمال تهیه شد. عملیات تهیه‌ی زمین شامل یک شخم عمیق، دو دیسک عمود بر هم و کشت به صورت ردیفی انجام شد، فاصله‌ی ردیف‌ها و بوته‌ها از هم ۳۰ سانتی‌متر بود. هر واحد آزمایشی به ابعاد 2×3 متر دارای ۱۰ خط کاشت و تراکم ۱۱ بوته در متر مربع بود. نشاها ۱۵ اردیبهشت به زمین اصلی منتقل شد و آبیاری هفته‌ای یکبار صورت می‌گرفت.

اعمال تیمار و نمونه‌برداری: برای محلول‌سازی اسید

جاسمونیک با سمپلر و اسید سالیسیلیک پس از وزن کردن در دو میلی‌لیتر اتانول ۵۰٪ حل شد و سپس با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانیده شد. در گیاه شاهد نیز محلول‌پاشی با آب مقطر به همراه دو میلی‌لیتر الکل صورت گرفت. یک هفته بعد از پایان محلول‌پاشی آخر، نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی صورت گرفت، نمونه‌برداری از آخرین برگ کاملاً توسعه یافته فوقانی صورت گرفت. اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شد.

استخراج و اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن: استخراج و

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن با استفاده از رنگ‌سنجی و بر طبق روش (۱۳) انجام شد.

اندازه‌گیری نفوذپذیری غشاء: اندازه‌گیری نفوذپذیری غشاء

برگ بر طبق روش (۳۳) انجام شد. ۰/۲ گرم وزن تر برگ (از قسمت تحتانی) از هر تکرار را به دقت شسته و سپس به تکه‌های یک سانتی‌متری بریده و درون لوله‌های فآلکون به مدت ۳ ساعت در دمای 30°C در حمام آب گرم قرار گرفتند. بعد از سه ساعت، هدایت الکتریکی محلول‌ها با استفاده از هدایت سنج الکتریکی مدل (PT-20) اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های فآلکون در دمای 100°C در حمام آب گرم به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. آنگاه برای بار دوم هدایت الکتریکی آنها پس از سرد شدن و رسیدن به دمای اتاق اندازه‌گیری شد. نشأت الکترولیتی محلول‌ها با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

$$\text{EC (درصد)} = \frac{C_1}{C_2} \times 100$$

که در این فرمول C_1 و C_2 به ترتیب هدایت الکتریکی محلول قبل و بعد از جوش می‌باشد.

گایاکول پراکسیداز (GPX): استخراج عصاره، به روش (۱۶) و

سنجش فعالیت آنزیم از روش (۵) استفاده شد. مخلوط واکنش به

استخراج و اندازه‌گیری فنل کل: از عصاره متانولی استخراج

شده بر اساس روش (۱۷) برای اندازه‌گیری فنل استفاده گردید. جهت سنجش فعالیت آنزیم، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به همراه ۳ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکاتیبو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱:۱۰) درون لوله‌ی فالكون ریخته شد و در بن‌ماری با دمای °C ۲۲ به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. سپس به آن ۳ میلی‌لیتر محلول بیکربنات سدیم ۶٪ افزوده و مجدداً در بن‌ماری با دمای °C ۲۲ به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شد. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت گردید. همچنین بلانک نیز مانند نمونه تهیه گردید با این تفاوت که به جای عصاره، ۴۰۰ میکرولیتر آب مقطر به لوله‌ی فالكون اضافه گردید. و با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک مقدار فنل کل بر اساس میلی گرم اسید گالیک در هر عصاره تعیین شد.

سنجش فلاونوئیدها: سنجش فلاونوئیدها بر طبق روش (۱۸)

انجام شد. مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تر برگ با ۳ میلی‌لیتر اتانول اسیدی به نسبت حجمی ۹۹ میلی‌لیتر اتانول و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال هموزن گردیده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰

دور در دقیقه سانتیفریوژ شد، پس از سانتیفریوژ به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای °C ۸۰ قرار گرفت، سپس شدت جذب در طول موج ۳۰۰ نانومتر قرائت گردید.

سنجش آنتوسیانین: اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین با استفاده از

روش (۲۳) انجام شد.

داده‌های به دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS

9.2 مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و مقایسه‌ی میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر صفات پراکسید هیدروژن، هدایت الکتریکی GPX، GST، PAL، فنل کل، فلاونوئید و آنتوسیانین در استویا اثر معنی‌داری در سطح یک درصد داشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایز و ترکیبات فنلی در استویا تحت تاثیر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و اسید جاسمونیک

Table 2. Analysis of variance of antioxidant enzymes, PAL and phenolic compounds affected salicylic and jasmonic acid on stevia.

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	پراکسید هیدروژن H2O2	هدایت الکتریکی EC	گایاکول پراکسیداز GPX	گلوتاتیون-S-ترانسفراز GST	فنیل-آلانیل-آمونیا لایز PAL	فنل کل Total phenol	فلاونوئید Flavonoid	آنتوسیانین Anthocyanin
Block بلوک	2	0.0377 ^{n.s}	12.5 ^{n.s}	0.00003 ^{n.s}	0.00003 ^{n.s}	7739 ^{ns}	72.17 ^{n.s}	16.2 ^{n.s}	0.0034 ^{n.s}
محلول‌پاشی Foliar application	11	2.581**	635.86**	0.003**	0.004**	87084.5**	3505.7**	1448**	0.89**
خطا Error	22	0.281	6.45	0.0003	0.001	2514	154.4	13.1	0.04
CV (%)		5.2	3.24	4.04	4.66	6.4	4.8	5	9.7

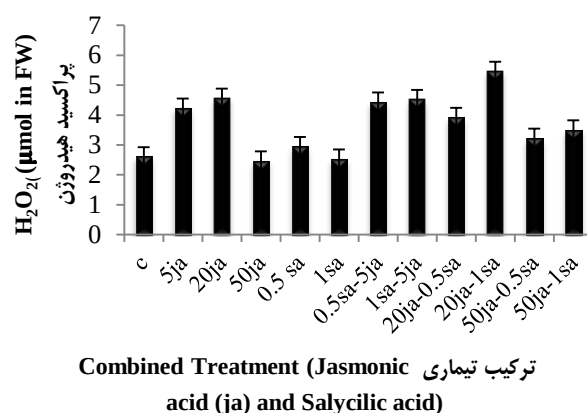
** Significant at 1% probability level and n.s not significant

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد و n.s عدم معنی‌داری

حرکت کرده، موجب القای تنش کاذب در گیاه، بیان و فعالیت یک سری از ژن‌های دفاعی می‌گردند (۸ و ۷). در این بررسی نیز محلول‌پاشی سبب افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در اغلب تیمارها (۹ تیمار) نسبت به شاهد شد.

پراکسید هیدروژن: روند تغییرات پراکسید هیدروژن تحت اثر

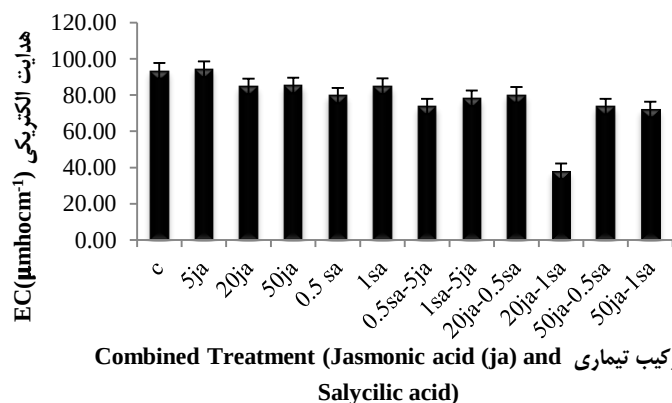
محلول‌پاشی در شکل ۱ ارائه شده است. محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک سبب افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در ۹ تیمار نسبت به شاهد شد؛ بیشترین میزان غلظت پراکسید هیدروژن در تیمار ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید که غلظت آن ۵/۴۶ میکرومول در بافت تر بود. وقتی مولکول‌های پیام‌رسان اسید جاسمونیک و سالیسیلیک به صورت خارجی بکار برده می‌شوند به صورت سیستمیک در گیاه



شکل ۱- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر میزان پراکسید هیدروژن برگ استویا، LSD=۰/۳۲
Figure 1- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on hydrogen peroxide concentration in stevia leaf, LSD=0.32.

شاهد سبب افزایش میزان هدایت الکتریکی نگردید که می‌توان به افزایش فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی (شکل‌های ۳، ۴، ۶ و ۸) که پالایند گونه‌های فعال اکسیژن هستند نسبت داد؛ فعالیت آنها مانع از تولید و انباشتگی رادیکال‌های آزاد و خسارت به اسیدهای چرب غیراشباع غشاهای سلولی گردید. در نهایت این تغییرات مانع از اختلال در عملکرد غشاء، کاهش ویسکوزیته، نفوذپذیری و نشت مواد از غشاء سلول گردید.

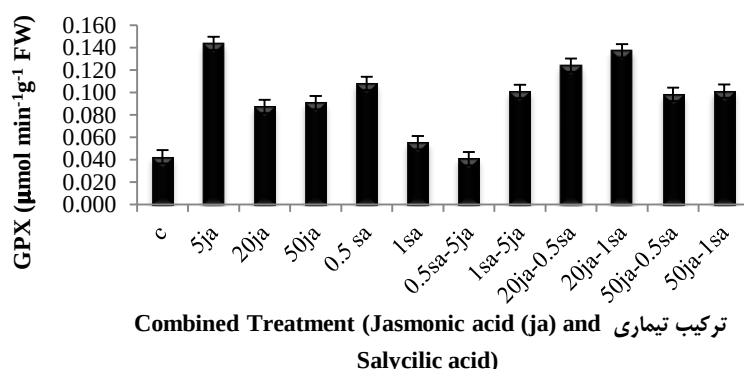
هدایت الکتریکی: هدایت الکتریکی شاخصی از پایداری غشاهای می‌باشد؛ همان‌طور که نتایج مقایسه‌ی میانگین‌ها نشان می‌دهد بیشتر تیمارهای محلول پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک (۱۰ تیمار) میزان هدایت الکتریکی کمتری نسبت به شاهد داشته‌اند یا به عبارت دیگر از پایداری غشای بیشتری نسبت به شاهد برخوردار بوده‌اند (شکل ۲). افزایش میزان پراکسید هیدروژن در اغلب تیمارها نسبت به



شکل ۲- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر هدایت الکتریکی برگ استویا، LSD=۴/۳
Figure 2- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on electrical leakage in stevia leaf, LSD=4.3.

فعالیت آنزیم GPX در گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) گردیده است (۲۲). تیمار با متیل جاسمونات ۲۰۰ میکرومولار در گیاه جنسینگ (*Saponins Tti pterpenoid*) فعالیت آنزیم GPX را در روز سوم، پنجم و هفتم افزایش داد و در روز نهم به اوج فعالیت رسید (۳۲).

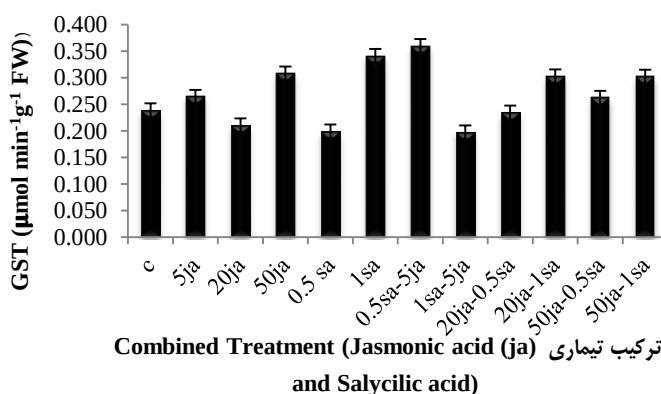
فعالیت آنزیم GPX: گیاه در جهت پالایش گونه‌های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی خود از جمله فعالیت آنزیم GPX را در اغلب تیمارها (۱۰ تیمار) افزایش داد (شکل ۳). بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای ۵ میکرومولار اسید جاسمونیک، ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک-۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۰/۱۴۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم بافت تر مشاهده شد. گزارش شده است که متیل جاسمونات باعث افزایش



شکل ۳- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم GPX برگ استویا، LSD= ۰/۰۰۶
 Figure 3- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on GPX enzyme activity in stevia leaf, LSD=0.006

آنتوسیانین و سینامیک اسید ایفا می کند. رنگدانه های آنتوسیانین در سیتوپلاسم ساخته می شوند و در واکوئل جای می گیرد. فعالیت B Z 2- سبب انتقال Cyanidin-3-glucoside به واکوئل می گردند، جایی که آنتوسیانین به رنگ قرمز یا بنفش دیده می شود. B Z 2- (Bronze 2) نوعی از GST می باشد که سبب تشکیل ترکیبات GSH-آنتوسیانین می گردند که به این فرم اجازه ی انتقال به واکوئل با پمپ گلوکوتایون را می گیرد، افزایش فعالیت آنزیم GST می تواند سبب افزایش برخی از متابولیت های ثانویه گردند (۲۰ و ۲۴).

فعالیت آنزیم GST: شکل ۴ مقایسه ی میانگین روند تغییرات فعالیت آنزیم GST را تحت اثر محلول پاشی نشان می دهد. محلول پاشی سبب افزایش فعالیت آنزیم GST در ۷ تیمار بیشتر از شاهد شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای ۵ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک و ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۰/۳۵ میکرومول بر دقیقه بر گرم بافت تر و در تیمار شاهد ۰/۲۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم بافت تر بود. GST گیاهی نقش مهمی را در سنتز متابولیت های ثانویه نظیر



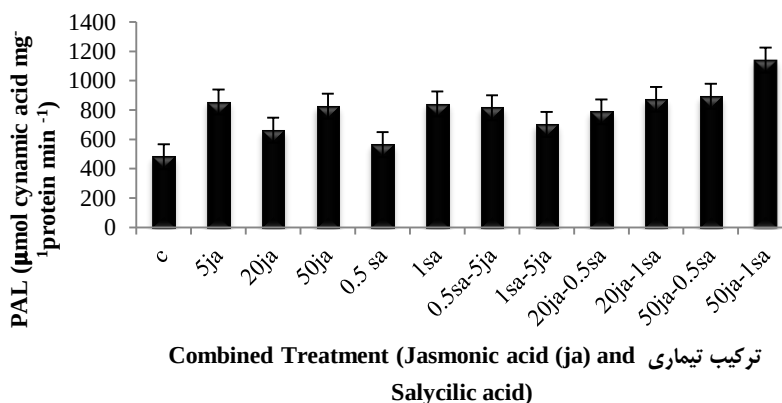
شکل ۴- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم G-S-T برگ استویا، LSD= ۰/۰۱۳
 Figure 4- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on G-S-T enzyme activity in stevia leaf, LSD=0.013

فعالیت آنزیم PAL همبستگی مثبت و معنی داری با میزان پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم GST داشت (داده ها نشان داده نشد)؛ آنزیم PAL آغازگر مسیر فنیل پروپانوییدی می باشد که L- فنیل آلانین را با دامیناسیون به ترانس سینامیک اسید تبدیل می کند (۲ و ۹). افزایش فعالیت آنزیم PAL که اولین آنزیم مسیر

فعالیت آنزیم PAL: محلول پاشی سبب افزایش فعالیت آنزیم در بیشتر تیمارها (۱۰ تیمار) نسبت به شاهد گردید (شکل ۵)، بیشترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار ترکیبی ۵۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۱۱۴۰ میکرومول سینامیک اسید بر میلی گرم پروتئین بر دقیقه حاصل گردید.

عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان نیز در نظر گرفته شود، زیرا دارای خاصیت به دام اندازی رادیکال‌های اکسیژن از طریق ترکیبات فنلی تولید شده است (۲۸).
است (۲۸).

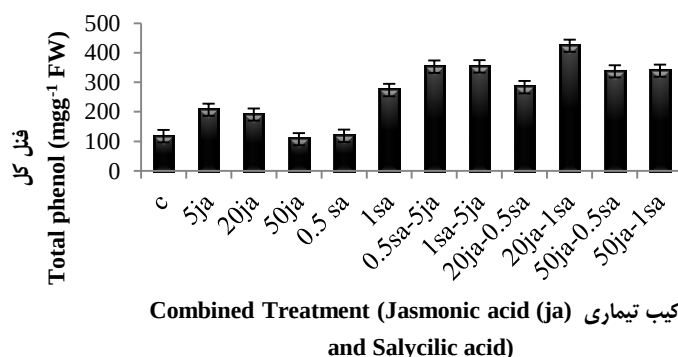
بیوستنزی ترکیبات فنلی است در واکنش به الیستورها در بررسی‌های (۲، ۹، ۲۸ و ۳۲) گزارش شده است. فعالیت آنزیم PAL حدواسط بین متابولیسم اولیه و ثانویه در گیاهان است. آنزیم PAL می‌تواند به



شکل ۵- اثر محلول‌پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم PAL برگ استویا، LSD= ۸۴/۹
Figure 5- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on PAL enzyme activity in stevia leaf, LSD=84.9.

و افزایش فعالیت این آنزیم نسبت داده اند از آن‌جا که این آنزیم یک آنزیم کلیدی در بیوستنزی ترکیبات فنلی می‌باشد (۷، ۲۸ و ۳۲)، به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر نیز افزایش فعالیت این آنزیم یکی از دلایل افزایش مقدار ترکیبات فنلی در گیاه استویا باشد. استویا دارای خاصیت ضد سرطانی، ضد قند خون و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌باشد. گزارش شده است که این خواص به سبب حضور ترکیبات فنلی در استویا می‌باشد که دارای خاصیت ربایش و پالایش رادیکال‌های آزاد می‌باشد (۱۴). محققین وجود یک رابطه مثبت بین کاربرد خارجی متیل جاسمونات و سنتز ترکیبات فنلی، را به عنوان بخشی از واکنش دفاعی گیاه گزارش نمودند (۱۴).

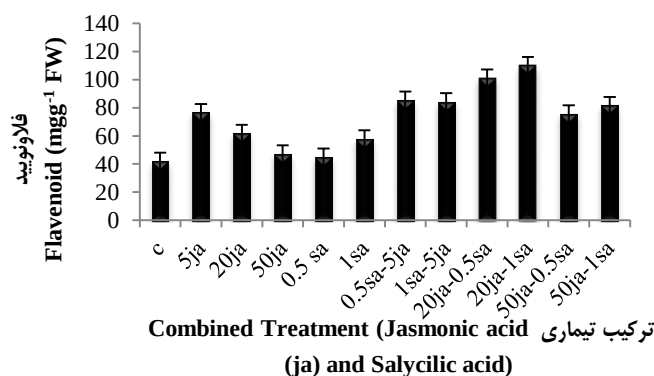
فنل کل: محلول‌پاشی سبب افزایش غلظت فنل کل در بیشتر تیمارها نسبت به شاهد شد، نکته حائز اهمیت آن است که میزان افزایش فنل کل بیشتر در تیمارهای ترکیبی نسبت به استفاده‌ی جداگانه آنها مشاهده گردید (شکل ۶)؛ بیشترین میزان فنل کل نیز در تیمار ترکیبی ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک با میانگین ۴۲۳/۷ میلی گرم بر گرم بافت تر مشاهده گردید. بین تغییرات PAL و فنل کل همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشد). کاربرد متیل جاسمونات مقدار ترکیبات فنلی را در سیب‌زمینی، مارچوبه و لوبیا سبز افزایش داده است (۳۲ و ۱۹). محققین علت افزایش ترکیبات فنلی در تیمار با متیل جاسمونات را اثر این ماده بر فعالیت آنزیم PAL



شکل ۶- اثر محلول‌پاشی اسید جاسمونیک و سالیسیلیک اسید بر میزان فنل کل برگ استویا، LSD= ۲۱
Figure 6. The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application effect on total phenol content in stevia leaf, LSD=21.

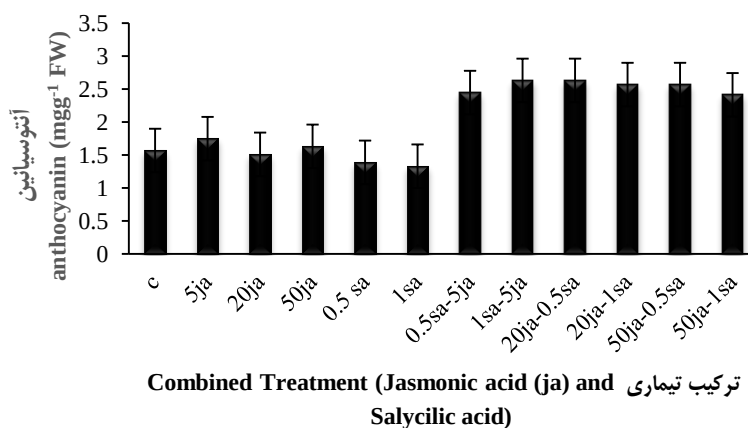
پروتون دهنده فعالیت می کنند (۲۹ و ۳۰). خواص آنتی اکسیدانی فلاونوئیدها به اثر بازدارندگی آنها در تنفس میتوکندریایی بر می گردد (۲۹). ایزوفلاونوئیدها (ایزوفلاون ها) فعالیت ضد میکروبی دارند. ایزوفلاونوئیدها به خاطر نقش فیتوالکسینی شان به خوبی شناخته شده اند، فیتوالکسین ها ترکیبات ضد میکروبی هستند که در پاسخ به آلودگی های باکتریایی و قارچی ایجاد می شوند، این ترکیبات گسترش عوامل بیماری زای مهاجم را محدود می کنند. از این رو دارای ارزش دارویی نیز می باشند (۱۳).

روند تغییرات فلاونوئید: محلول پاشی سبب افزایش غلظت فلاونوئید در بیشتر تیمارها (۹ تیمار) نسبت به شاهد گردید (شکل ۷). بیشترین میزان فلاونوئید در تیمار ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی مولار اسید سالیسیلیک با میانگین های ۱۱۰ میلی گرم بر گرم وزن تر مشاهده گردید. فلاونوئیدها به دلیل نقش آنتی اکسیدانی خود به طور مستقیم با وارد شدن به واکنش های احیایی و به طور غیرمستقیم به وسیله کی لیت کردن آهن مانع تنش اکسیداتیو می شوند و مانند بسیاری از پلی فنل های دیگر جمع کننده ی رادیکال های آزاد هستند، زیرا به عنوان گروه های قوی دهنده ی الکترون و



شکل ۷- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر میزان فلاونوئید برگ استویا، LSD= ۶/۱۲

Figure 7- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on flavonoid concentration in stevia leaf, LSD=6.12.



شکل ۸- اثر محلول پاشی اسید جاسمونیک و اسید سالیسیلیک بر میزان آنتوسیانین برگ استویا، LSD= ۰/۳۳

Figure 8- The effect of jasmonic acid and salicylic acid foliar application on anthocyanin concentration in stevia leaf, LSD=0.33.

ترکیبی گردید. آنتوسیانین ها (فلاونوئیدهای رنگی)، گلیکوزیدهایی هستند که در موقعیت کربن شماره ۳ خود و در برخی مواقع سایر موقعیت ها واجد قند هستند (۳۱). آنتوسیانین ها مهم ترین گروه از

روند تغییرات آنتوسیانین: شکل ۸ روند تغییرات آنتوسیانین را تحت اثر محلول پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک نشان می دهد محلول پاشی سبب افزایش غلظت آنتوسیانین در همه ی تیمارهای

آنتوسیانین در همه‌ی تیمارهای ترکیبی مشاهده گردید و با افزایش فعالیت آنزیم PAL همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشد). استویا دارای خاصیت ضد سرطانی، ضد قند خون و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌باشد. گزارش شده است که این خواص به سبب حضور ترکیبات فنلی در استویا می‌باشد که دارای خاصیت ربایش و پالایش رادیکال‌های آزاد می‌باشد. بنابراین افزایش ترکیبات فنلی تحت تأثیر محلول‌پاشی با اسید جاسمونیک و سالیسیلیک در گیاه استویا مفید می‌باشد.

رنگدانه‌های طبیعی بعد از کلروفیل هستند که در حفاظت نوری نقش دارند. افزایش میزان آنتوسیانین در شرایط تنش در *Begonia Semperflorens* گزارش شده است (۳۴). این افزایش به علت نقش حفاظت نوری آنتوسیانین به وسیله حذف مستقیم ROS در طول تنش اکسیداتیو می‌باشد (۳۴).

نتیجه‌گیری کلی

بیشترین میزان فنل کل و فلاونوئید در تیمار ترکیبی ۲۰ میکرومولار اسید جاسمونیک - ۱ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و

منابع

- 1-Ashok Kumar F., Yadav S., Singh D., Dhyani P., and Ahuja S. 2011. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. Plant Science Journal, 91: 1-27.
- 2-Bagal U.R., Leebens mack J.H., Walter Lorenz W., and Dean J.F.D. 2012. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. BMC Genoms, 13: (3) 1471-2164.
- 3-Bi H.H., Zeng R.S., Su L.M., An M., and Luo S.M., 2007. Rice allelopathy induced by methyl jasmonate and methyl salicylate. Journal of Chemical Ecology – Springer, 33(5): 1089-1103 -
- 4- Carlberg I., and Mannervik B. 1985. Glutathione reductase. Methode Enzymol, 113: 484-490.
- 5- Chance B., and Maehly A.C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods Enzymol, 11: 764-755.
- 6-Carmanol F., Sinet P.M., Rapin J., and Jerome H. 1981. Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: iperbillirubinemia and impaired renal function. Clinica chimica Acta Journal, 117 (3): 209-217.
- 7- Chan Z., and Tian S. 2006. Induction of H₂O₂ metabolizing enzyme and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry. Postharvest Biology, Technology, 39: 314-320.
- 8-Chen J., Cheng Z., and Zhong S. 2007. Effect of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂- metabolizing enzymes in rice seedlings lead stress. Journal of Environment Science, 19: 44-49.
- 9-Divya P., Puthusseri B., and Neelwarne B. 2013. The effect of plant regulators on the concentration of carotenoids and phenolic compound in foliage of Coriander. Food ScienceTechnology, 56: 101-110
- 10 -Dong J., Wan G., and Liang Z. 2010. Accumulation of salicylic acid-induced phenolic compounds and raised activities of secondary metabolic and antioxidative enzymes in *Salvia miltiorrhiza* cell culture. Journal of Biotechnology, 148: 99-104
- 11-Goyal R., Samsher K., and Goyal S.K. 2010. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 61 (1): 1-10.
- 12-Gupta P., Sharma S., and Saxena S. 2015. Biomass yield and steviol glycoside production in callus and suspension culture of *Stevia rebaudiana* treated with proline and polyethylene glycol. Applied Biochemistry and Biotechnology- Springer, 176(3): 863-74.
- 13- Haji_Mehdipour H., Khanavi M., Shkrchy M., Abadi Z., and Pirali-Hamadani M. 2008. The investigation of best method for phenolic compound extraction in *Echinacea purpurea*. Journal of Medicinal Plant, 8: 145-152.
- 14- Heredia J.B., and Cisneros-Zevallos L. 2009. The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on PAL activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. Post Biology Technology, 51(2): 242-249.
- 15- Jana S., and Choudhuri M.A. 1981. Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during aging. Aquatic Botany, 12: 342-354.
- 16- Kar M., and Mishra D. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology, 57: 315-319.
- 17-Kovacik J., and Bklejdus B. 2012. Tissue and method specificities of phenylalanine ammonia-lyase assay. Plant Physiology Journal, 169: 1317-1320
- 18-Krizek D.T., Britz S.J., and Mirecki R.M. 1998. Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. new red fire lettuce. Physiology Plantarum, 103: 1-7.
- 19-Kumari G. J., Reddy A.M., Naik S. T., Kumar S.G., Prasanthi J., Sriranganayakulu G., Reddy P.C., and Sudhakar C. 2006. Jasmonic acid induced changes in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase enzymes in peanut seedlings. Biologia Plantarum, 50: 219-226

- 20- Marrs K.A. 1996. The functions and regulation of glutathione s-transferase in plants. *Plant Physiology, Plant Molecular Biology*, 47:127–58
- 21-Mendoza D., Cuaspid O., Ariasa J.P., Ruiz O., and Arias M. 2018. Effect of salicylic acid and methyl jasmonate in the production of phenolic compounds in plant cell suspension cultures of *Thevetia peruviana*. *Biotechnology Reports*, (19): 1-19
- 20-Mikkelsen M. D., Petersen B. L., Glawischnig E., Jensen A. B., Andreasson E., and Halkier B. A. 2003. Modulation of CYP79 genes and glucosinolate profiles in *Arabidopsis* by defense signaling pathways. *Plant Physiology Journal*, 131(1): 298-308.
- 23- Mita S., Murano N., Akaike M., and Nakamura K. 1997. Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin those are inducible by sugars. *Plant Journal*, 11:841-851.
- 24- Moons A. 2005. Regulatory and functional interactions of plant growth regulators and plant glutathione S-transferases (GSTs). *Plant Hormones*; 72: 155-202.
- 25- Popova L., Ananieva E., Hristova V., Christov K., Georgieva K., Alexieva V., and Stoinova Z.H. 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress *Bulg. Journal of Plant Physiology*, 13: 133-152.
- 26- Rao M.V., Paliyath G., Ormord D.P., and Watkins C.B. 1997. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress and H₂O₂ metabolizing enzymes Salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂. *Plant Physiology*, 115: 137-149.
- 27-Rasouli F., Gholipour M., Jahanbin K., and Asghari H.R. 2018. Effect of salicylic acid and jasmonic acid on induction of oxidative stress, increasing resistance and yield of *Echinacea purpurea* L. *Crop Plant Production*, 11(2): 109-122. (In Persian)
- 28-Samadi S., Ghasemnezhad A., and Alizadeh M. 2014. Investigation on phenylalanine ammonia-lyase activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by methyl jasmonate and salicylic acid in in-vitro conditions. *Journal of Plant Production Research*, 21: 135-148.
- 29- Sangtarash M.H., Qaderi M.M., Chinnappa C.C., and Reid D.M. 2009b. Carotenoid differential sensitivity of canola (*Brassica napus*) seedlings to ultraviolet-B radiation, water stress and abscisic acid. *Environmental and Experimental Botany*, 66 (2): 212-219
- 30- Suzuki A., Miller G., Morales J., Shulaev V., Torres M.A., and Mittler R. 2011. Respiratory burst toxic diseases: the role in ROS signaling. *Curr Opin. Plant Biology*, 14, 691–699
- 31-Taiz L., and Ziger A. 2006. *Plant Physiology*. 13, pp: 619-6230
- 32-Wasternack C., and Hause B. 2013. Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Annals of Botany*, 2013; 111: 1021±1058
- 33- Yan B., Dai Q., Liu X., Huang S.h., and Wang Z. 1996. Flooding induce membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. *Plant and Soil Journal*, 179:261-268.
- 34- Zhao J.L., Davis C., and Verpoorte R. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances Journal – Elsevier*, 23: 283–333.



Effect of Jasmonic and Salicylic Acid on Antioxidant Enzymes, PAL and Phenolic Compounds in *Stevia rebaudiana bertonii*

F. Rasouli^{1*}-M. Gholipour²-K. Jahanbin³- H.R. Asghari⁴

Received: 28-08-2019

Accepted: 04-12-2019

Introduction: Salicylic acid and jasmonates (chemical elicitors) are considered as key signaling compounds in induction process, which leads to accumulate of secondary metabolites. External uses of these compounds cause to induce pseudo stress in plants and excites defensive replies in plants, in response to induction of oxidative stress, the plant increases amount of antioxidant genes expression and increase enzymatic activity and non-enzymatic antioxidants concentration (they often have a medicinal aspect).

Material and methods: The present study investigated the effects of jasmonic acid and salicylic acid on hydrogen peroxide content, electrical lockage, GPX, GST and PAL activity, total phenol, flavonoid and anthocyanin changing in *Stevia rebaudiana bertonii* under field conditions. The experiment arranged as a randomized complete block design with 12 treatments and three replications in 2015-2016 at Amol city in Mazandaran Province in Iran. Experimental treatments were spraying by different concentration of jasmonic acid, salicylic acid and components of jasmonic acid- salicylic acid. Foliar application started after plant establishment in vegetative phase. Each experimental plot was 2 m× 3 m consisting 10 rows with 30 cm row spaces and seedling transplanted on 15 May. At the end of foliar application, sampling was done for the measuring. Sampling for biochemical analyses from second fully developed leaf was done and freezed in liquid nitrogen, then quickly carried out to laboratory.

Results and Discussion: The analysis of variance showed that different concentration of jasmonic acid and salicylic acid and spraying both of them in 7-day intervals appeared to be effective (with 99% confidence) on studied traits (data not shown). Spraying with jasmonic and salicylic acid increased hydrogen peroxide content in 9 treatments compared to the control. The highest amount of hydrogen peroxide content in compounds treatment 20 μM JA -1 mM SA with mean of 5.46 μmol in fresh weight observed. Plant in response to jasmonic and salicylic acid spraying increased GPX activity in 10 treatments and GST activity in 7 treatments compared to the control and follow them electrical lockage in most treatments (10) was lower than control. The highest amount of GPX activity in treatments 5 μM JA and 5 μM JA with average of 0.11 $\mu\text{molmin}^{-1}\text{g}^{-1}$ FW observed. The highest amount of GST activity was obtained from treatments of 0.5 mM SA- 5 μM JA and 1 mM SA with average of 0.35 $\mu\text{molmin}^{-1}\text{g}^{-1}$ FW. The PAL enzyme activity (the first enzyme in phenyl propanoid compounds biosynthesis pathway) in 10 treatment increased. The highest amount of PAL activity was in compounds treatment of 50 μM JA -1 mM SA with average of 1140 μmol cynamic acid mg^{-1} protein min^{-1} . The PAL enzyme activity had correlation with hydrogen peroxide concentration and GST activity. The PAL enzyme initiates a phenylpropanoid route that converts L-phenylalanine to trans-cyanamide acid deamination. The PAL enzyme can consider as an antioxidant enzyme because it has the role of depositing oxygen radicals through phenolic compounds. Spraying increased total phenol content in 8 treatments compared to the control. The highest amount of total phenol content was observed in compounds treatment of 20 μM JA -1 mM SA with mean of 423.7 mgg^{-1} FW. Spraying with jasmonic acid and salicylic acid increased flavonoid concentration in 9 treatments compared to the control. The highest amount of flavonoid content was in treatment of 20 μM JA -1 mM SA with mean of 110 mgg^{-1} FW. Spraying increased anthocyanin concentration in 6 treatments compared to the control. Anthocyanins are the most important group of natural pigments after chlorophyll that are involved in light protection. The noticeable point is that in most treatment PAL enzyme activity, total phenol, flavonoid and anthocyanin content in compound treatment increased.

Conclusion: The highest amount of total phenol and flavonoid content observed in compounds treatment of

1-PhD Educated and Associate Professors, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood

(*-Corresponding Author Email: f.rasouli86@gmail.com)

3-Associate Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood

20 μ M JA -1 mM SA and anthocyanin increased in total compounds treatment and using PAL enzyme activity had correlation and significant effect (data not shown). Stevia has anti-cancer effect, anti-blood glucose effect and anti-cardiovascular effect. This effects for the existence phenolic compounds in stevia such that had the ability to remove ROS, so increasing phenolic component by jasmonic acid and salicylic acid spraying in stevia was useful.

Keywords: Flavenoid, GPX, GST, H₂O₂.



بررسی امکان القاء پلی پلویدی در سوخ‌های سنبلک *Muscari* با استفاده از ته شکافی و تیمار کلشی سین

عبدالرضا رمضان قنبری^۱ - ایمان روح الهی^{۲*}

دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۹

پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۵

چکیده

سنبلک به عنوان گل سوخ‌دار مقاوم به سرما، با رنگ آبی و تمایل به گلدهی چندباره قابلیت استفاده زیادی در فضای سبز دارد. ته‌شکافی در تکثیر گل‌های سوخ‌دار به روش سنتی یا در ترکیب با تکنیک کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات زیادی مانند کلشی‌سین می‌توانند موجب پلی‌پلویدی شوند. با هدف ارزیابی تاثیر همزمان تیمار کلشی‌سین و ته‌شکافی بر زنده‌مانی و احتمال ایجاد پلی‌پلویدی سوخ‌های سنبلک، دو آزمایش جداگانه هر کدام طی دو سال انجام شد. در آزمایش اول، تیمار کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد در سه تیمار زمانی ۲۴، ۳۲ و ۳۶ ساعت در دو گروه شکاف‌زده و شکاف‌نزده اعمال و در نهایت درصد زنده‌مانی، درصد گلدهی، فاکتورهای مرفولوژیکی و تراکم روزنه و طول و عرض روزنه ارزیابی شد. در آزمایش دوم تاثیر شکاف‌دهی همزمان با تیمار کلشی‌سین ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد به مدت ۲۴ ساعت برای دو سال، مشابه آزمایش اول مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شکاف‌دهی سوخ‌ها و غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین، تاثیر منفی بر میزان درصد زنده‌مانی و گلدهی سوخ‌های سنبلک داشته است. تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۲ ساعت، بدون شکاف‌دهی یکی از بهترین روش تیمار برای القاء پلی‌پلویدی در گل‌های سوخ‌دار خصوصاً سنبلک می‌باشد. این در حالی است که تیمار ۳۲ ساعت سوخ سنبلک با کلشی‌سین ۰/۰۵ در سال دوم بیشترین درصد زنده‌مانی (۷۵ درصد) و درصد گلدهی (۱۰ درصد) را به خود اختصاص داد. غلظت بالای کلشی‌سین و شکاف‌دهی درصد زنده‌مانی و درصد گلدهی را کاهش دادند. در نهایت برای افزایش احتمال القاء پلی‌پلویدی در سنبلک و سایر گیاهان سوخی، طبق نتایج هر دو آزمایش انجام شده غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت بدون تیمار شکاف‌دهی با زنده‌مانی ۸۵ درصد و گلدهی ۴۵ درصد در سال اول و زنده‌مانی ۷۰ درصد و گلدهی ۵ درصد در سال دوم توصیه می‌شود. این تیمار به نحو معنی‌داری تعداد روزنه را ۵۰ درصد کاهش و طول روزنه و عرض روزنه را ۵۰ درصد افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: تکثیر، درصد زنده‌مانی، روزنه، گل سوخ‌دار

مقدمه

سنبلک را به راحتی می‌توان پیش‌رس نموده و به عنوان گیاه گلدانی و یا شاخه بریده مورد استفاده قرارداد، به علاوه گیاه بسیار مناسبی برای باغ و فضای باز می‌باشد (۳). گل‌های سنبلک خوشه‌ای و در انتهای ساقه در طیف رنگی زیادی (آبی، سفید، ارغوانی تا آبی تیره) قرار دارند و زمان گلدهی این گیاه معمولاً در اوایل بهار می‌باشد (۱). سنبلک به راحتی در باغ‌ها تکثیر می‌شود و به شرایط متنوعی از رشد و پیش‌رس شدن سازگار می‌باشد. این گیاه برای باغ‌های صخره‌ای، حاشیه‌سازی و به عنوان گیاه چند ساله در بین چمن‌ها، درختان و بوته‌ها، در نقاط آفتابی قابل استفاده است. غالباً در هر خاکی کاشت آن موفقیت‌آمیز است اما بهترین رشد را در خاک‌هایی با زهکشی مناسب خواهد داشت (۳). سنبلک از گیاهان دائمی سوخ‌دار بوده و برگ‌های علفی آن در پاییز ظاهر می‌گردد. دانه‌های حاصل از بذر پس از سه سال به گل می‌نشینند (۱). گیاهان سوخ‌دار نه تنها به وسیله بذر بلکه به وسیله اندام‌های زیرزمینی تکثیر شده و تداوم نسل

گل‌های زینتی شامل بیش از هشتصد جنس گیاهی مختلف هستند که در پاسخ به شرایط متفاوت محیطی مناطقی که از آن منشأ گرفته‌اند، دارای فیزیولوژی و زیست‌شناسی متفاوتی می‌باشند (۱). اصلاح و تولید ارقام جدید گیاهان زینتی و تکثیر و پرورش آن‌ها، صنعتی رو به گسترش است. از نظر ریخت‌شناسی، گیاهان سوخ‌دار با اندام‌های زیرزمینی مانند ریزوم، غده، پدازه و یا سوخ شناخته می‌شوند. سنبلک (*Muscari neglectum*) از خانواده مارچوبه، سوخ‌دار و شامل ۵۰ گونه است که بومی اروپا و آسیا است (۲).

۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد

(*)- نویسنده مسئول: (Email: I.rohollahi@shahed.ac.ir)

می‌دهند. ته‌شکافی یا Scoring در تکثیر گل‌های سوخدار به روش سنتی یا در ترکیب با تکنیک کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد، این روش از سال ۱۹۳۵ میلادی استفاده می‌شود و سوخک‌های حاصل از آن طی دو سال به سبزی مناسب برای فروش می‌رسند (۱). روش ته‌شکافی بیشتر برای تحریک سوخک در سنبل (Hyacinthus)، نجم آبی (Scilla) و سنبلک (Muscari) استفاده می‌شود. جهت اعمال ته‌شکافی چند شکاف متقاطع در محل صفحه پایگاهی سوخ ایجاد می‌شود به طوری که عمق این شکاف‌ها تا محل مریستم مرکزی برسد. پس از این عمل سوخ را به صورت وارونه در ماسه خشک و تمیز به مدت دو هفته قرار می‌دهند تا در محل برش خورده پینه تشکیل شود. در این روش از هر سوخ مادری تا ۲۴ عدد سوخک تشکیل می‌شود (۳). کاربرد گیاهان زینتی در فضای سبز و افزایش تقاضای مردم به ارقام جدید سبب شده تا بهنژادگران برای تولید واریته‌های جدید با رنگ جذاب، گل بزرگ‌تر، دوام بیشتر، عطر زیاد و مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی برنامه ریزی نمایند. تنوع یک اصل اساسی در هر برنامه اصلاحی است و اصلاح گیاهان بر جمع‌آوری، انتخاب و ازدیاد ژنوتیپ‌های جدید تکیه دارد. روش‌های بهنژادی جهت ایجاد تنوع در گل و گیاهان زینتی صنعتی جهانی است، از راه‌های ایجاد تنوع در گیاهان ایجاد جهش و پلی‌پلوئیدی است (۴). یکی از انواع جهش‌ها شامل تغییر در تعداد کروموزوم‌ها است (پلی‌پلوئیدی) که در تکامل طبیعی و اصلاح نباتات نقش بسیار مهمی داشته‌است. پلی‌پلوئیدی معمولاً بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی (ضخامت، اندازه و شکل اندام‌های رویشی و زایشی گیاه، میکروسکوپی (اندازه و تراکم روزنه و سلول‌های نگهبان روزنه، تعداد کلروپلاست‌های سلول‌های محافظ روزنه)، فیزیولوژیکی (زمان و طول مدت گل‌دهی، باروری گیاه، ویژگی‌های دانه و قدرت باروری دانه‌های گرده، فتوسنتز، مقاومت در برابر تنش و غیره) و فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه نیز موثر است (۵). برای القاء پلی‌پلوئیدی در گیاهان می‌توان از مواد شیمیایی مانند کلشی‌سین استفاده نمود. کلشی‌سین آلکالوئیدی است که از سوخ‌های گیاهی از خانواده لاله (لیلیاسه) با نام گل حسرت (*Colchicum speciosum*) استخراج می‌شود. کلشی‌سین باعث تخریب تارهای دوکی شکل می‌شود که این تارها وظیفه‌شان انتقال و هدایت کروموزوم‌ها به قطبین می‌باشد. در اثر تخریب این تارها چرخه تقسیم سلولی در مرحله متافاز متوقف شده و در مرحله آنافاز عملی نمی‌شود، در نتیجه کروموزوم‌های دوبرابر شده در داخل یک هسته باقی خواهند ماند (۴). کلشی‌سین تمایل زیادی جهت اتصال به میکروتوبول‌های سلول‌های جانوری دارد، بنابراین برای انسان سمی و سرطان‌زا بوده و تماس پوستی و حتی استنشاق آن بسیار خطرناک و مضر می‌باشد (۶). سنبلک یک گل سوخدار زینتی و

اقتصادی محسوب شده و با توجه به رنگ زیبای منحصر به فرد آن، تمایل سوخ‌ها به گلدهی چندباره و مقاومت بسیار زیاد به سرما و زود گلدهی در فصل بهار و امکان کاشت آن به همراه سایر گل‌های سوخدار، توجه زیادی به آن در دنیا معطوف شده است (۳). با هدف القاء گامت‌های دیپلوئید در 'con Amore' *Lilium oriental* با غلظت‌های ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ کلشی‌سین مشاهده شد که غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین بالاترین درصد القاء جهش را به خود اختصاص داده، در حالی که غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین رتبه دوم درصد القاء جهش را نشان می‌دهد و مرگ و میر نمونه‌ها در آن به نصف کاهش یافته است (۴). در تیمار نمونه‌ای کشت بافتی *Muscari armeniacum* با استفاده از کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۵ ساعت در محیط کشت بافت میزان القاء پلی-پلوئیدی به ۴۵/۶ درصد رسید، نمونه ای تیمار شده با کلشی‌سین در مقایسه با نمونه‌های دیپلوئید معمولی برگ‌های بزرگ‌تر و ضخیم‌تر با رنگ سبز تیره تر داشتند (۷). اطلاعات چندانی از روش‌های بهینه تیمار گل‌های سوخدار با مواد جهش‌زا مانند کلشی‌سین وجود ندارد. بعلاوه مطالعه‌ای درباره کاربرد همزمان روش‌های ویژه تکثیر در گیاهان سوخدار مانند ته‌شکافی با تیمار کلشی‌سین انجام نشده است. بنابراین تاثیر همزمان تیمار ته‌شکافی و کلشی‌سین بر امکان ایجاد پلی‌پلوئیدی در سنبلک مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تاثیر همزمان تیمارهای ته‌شکافی و تیمار کلشی‌سین در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف غوطه‌ور سازی بر سوخ‌های سنبلک، دو آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در هر تکرار با ۲۰ عدد پیاز طی دو سال جداگانه انجام شد. قابل ذکر است که درصد زنده مانی و درصد گلدهی تنها بر اساس درصد گیاهان زنده مانده و درصد گلدهی در بین ۲۰ پیاز تیمار شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش در محل باغ تحقیقاتی گیاهان زینتی در دانشگاه شاهد تهران در طی دو سال در فضای باز با میانگین دمای هوای (جدول ۱) انجام شد.

سوخ‌های سنبلک از گونه *Muscari armeniacum* (www.flowerbulbsholland.com - ۱۳۹۶) تهیه و برای این مطالعه استفاده شدند. غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد محلول کلشی‌سین (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA) تهیه شدند.

جدول ۱- دمای هوا در محل انجام آزمایش در طی سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷

Table 1- Weather temperature in experiment site during the 2017 and 2108.

فروردین April	اردیبهشت May	خرداد June	تیر July	مرداد August	شهریور September	مهر October	آبان November	آذر December	دی January	بهمن February	اسفند March	دمای هوا °C
15	24	28	35	34	36	30	22	16	16	11	13	سال 1396 Year 2017
25	20	21	35	۳۵	35	30	23	15	8	7	8	سال 1397 YEAR 2018

(۸) از تمام گیاهان سنبلک نمونه تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده روی لام قرار داده شده و از تمام نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی که به میکروسکوپ نوری (Olympus, BX 40, Tokyo, Japan) متصل بود، عکس‌برداری انجام و ابعاد، تعداد و تراکم روزنه‌ها با نرم افزار Image J (USA, NIH) مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام داده‌های به دست آمده از مشاهده‌های میکروسکوپی مربوط به هر تیمار ثبت گردید. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شدند.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش اول - سال اول (جدول ۲) نشان می‌دهد که بالاترین درصد زنده‌مانی (۱۰۰ درصد) و گلدهی (۵۵ درصد) در سوخ‌های شکاف نزده و ۱۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین قابل مشاهده است. همچنین پایین‌ترین درصد زنده‌مانی (۵۵ درصد) و گلدهی (۵ درصد) مربوط به تیمار ۳۲ ساعت با کلشی‌سین و تیمار شکاف‌دهی بود (جدول ۲).

در آزمایش اول - سال دوم بالاترین درصد زنده‌مانی (۷۵ درصد) و گلدهی (۱۰ درصد) در سوخ‌های شکاف نزده و ۳۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین بود و پایین‌ترین درصد زنده‌مانی (۳۰ درصد) و گلدهی (۰ درصد) در ۱۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین و تیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۲). در همه سوخ‌های تحت تیمار شکاف‌دهی در سه زمان ۱۲، ۲۴ و ۳۲ ساعت استفاده از کلشی‌سین، گلدهی (۰ درصد) مشاهده نشد (جدول ۲).

در آزمایش دوم- سال اول بالاترین درصد زنده‌مانی (۸۵ درصد) در تیمار ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین و بدون شکاف‌دهی و پایین‌ترین درصد زنده‌مانی در تیمار ۰/۱ درصد کلشی‌سین تحت تیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۳). بالاترین درصد گلدهی (۴۵ درصد) در تیمار ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین و بدون تیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۳). همچنین پایین‌ترین درصد گلدهی (۱۵ درصد) در سوخ‌های تیمار شده با ۰/۱ درصد کلشی‌سین و تحت تیمار

آزمایش اول: سوخ‌های سنبلک تحت دو تیمار شکاف‌دهی در ۲ سطح (شکاف‌دهی و عدم شکاف‌دهی) و کلشی‌سین با غلظت ۰/۰۵ درصد در زمان‌های ۳ زمان غوطه‌ورسازی (۱۲، ۲۴ و ۳۲ ساعت) قرار گرفتند، در کنار تیمارهای بیان شده شاهد بدون تیمار شکاف‌دهی و بدون تیمار کلشی‌سین در نظر گرفته شد. برای این کار پیازها به نحوی در ظروف حاوی کلشی‌سین قرار گرفتند که فقط ریشه‌ها و صفحه پایگاهی سوخ‌ها در تماس با محلول کلشی‌سین قرار گرفته و فلس‌ها خارج از محلول بودند. پیازهای شاهد فقط در آب مقطر قرار داده شدند. سپس سوخ‌های تیمار شده با محلول کلشی‌سین در مهرماه درون گلدان‌هایی به عمق ۵۰ سانتیمتر حاوی ۵۰ درصد پیت ماس و ۵۰ درصد پرلیت کاشته شدند. گلدان‌ها در شرایط طبیعی و محیط باز سرمادهی شده و بعد از ۶ ماه رشد و نمو صفت‌های (درصد زنده‌مانی، درصد گلدهی، تعداد برگ، طول بلندترین برگ، طول گلچه و طول دمگل) در سال اول مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس سوخ‌ها با سوخک‌های تولید شده بعد از خشک شدن کامل اندام هوایی در تیرماه از خاک خارج، هوادهی و در دما و رطوبت مناسب در پاکت‌های کاغذی به صورت جداگانه در اتاق‌های خشک و دارای تهویه مناسب در ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در سال دوم هر یک از سوخ‌های تیمار شده همراه با سوخک‌های آن‌ها برای ارزیابی مجدداً همانند سال اول در مهرماه کاشته شدند. صفت‌های مورد ارزیابی در سال دوم عبارت بودند از: درصد زنده‌مانی، درصد گلدهی، تعداد برگ، طول بلندترین برگ، عرض برگ، تعداد و طول و عرض روزنه.

آزمایش دوم: برای مقایسه تاثیر دو غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد محلول کلشی‌سین جهت القاء پلی پلوئیدی در گیاه سنبلک، سوخ‌های مورد استفاده در آزمایش دوم، تحت تیمار زمانی ۲۴ ساعت در دو گروه شکاف‌نزده و شکاف‌زده، در غلظت‌های بیان شده قرار داده شدند. در کنار تیمارهای بیان شده شاهد بدون تیمار شکاف‌دهی و بدون تیمار کلشی‌سین در نظر گرفته شد. همه شرایط انجام آزمایش دوم مانند آزمایش اول و طی دو سال انجام گردید. برای اندازه‌گیری طول و عرض و تراکم روزنه‌ها از قسمت میانی اپیدرم فوقانی همه برگ‌های سوخ‌های زنده و بالغ با استفاده از تکنیک براق کننده ناخن

شکافدهی مشاهده شد (جدول ۳).
 در آزمایش دوم-سال دوم بالاترین درصد زنده‌مانی (۷۰ درصد) در سوخ‌هایی تحت تیمار ۰/۰۵ درصد کلشی سین بدون شکافدهی مشاهده و کمترین درصد زنده‌مانی (۰ درصد) نیز در سوخ‌های تحت تیمار ۰/۱ درصد کلشی سین و تحت تیمار شکافدهی مشاهده شد (جدول ۳). تیمار شکافدهی تاثیر منفی بر زنده‌مانی و گلدهی داشته و قابل توصیه نمی‌باشد. نفوذ کلشی سین طی تیمار شکافدهی درون صفحه پایگاهی باعث کاهش شدید درصد زنده‌مانی و گلدهی در سوخ‌های سنبک شده است. در بین تیمارهای زمانی اعمال شده در آزمایش اول، سال اول ۱۲ ساعت و سال دوم ۳۲ ساعت تیمار با کلشی سین بهترین درصد زنده‌مانی و گلدهی را نشان دادند.

جدول ۲ - درصد زنده‌مانی و گلدهی سنبک *Muscari* در آزمایش اول - سال اول و دوم تحت تیمار کلشی سین ۰/۰۵ درصد و تیمار شکافدهی در سه زمان ۱۲، ۲۴ و ۳۲ ساعت تیمار با کلشی سین.

Table 2 - The percentage of viability and flowering of *Muscari armeniacum* in the first experiment-first and second year treated with Colchicine 0.05 درصد and scoring in three soaking time (12 h, 24 h and 32 h).

شکافدهی Scoring	شاهد Control	با شکافدهی With Scoring				بدون شکافدهی Without Scoring		
کلشی سین Colchicine (hour)	0	32 h	24 h	12 h		32 h	24 h	12 h
First Year								
درصد زنده‌مانی Viability*	100	55	65	60		65	85	100
درصد گلدهی Flowering	100	5	20	20		40	45	55
Second Year								
درصد زنده‌مانی Viability	100	50	60	30		75	70	70
درصد گلدهی Flowering	100	0	0	0		10	5	0

* درصد زنده‌مانی با توجه به درصد گیاهان زنده مانده در بین ۲۰ عدد سوخ تیمار شده در هر تکرار محاسبه شده است. h= ساعت

* Viability percentage was calculated based on 20 bulbs per replication. h= Hours

جدول ۳ - درصد زنده‌مانی و گلدهی سنبک *Muscari* در آزمایش دوم - سال اول و دوم تحت تیمار کلشی سین ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تیمار شکافدهی طی ۲۴ ساعت تیمار با کلشی سین.

Table 3 - The percentage of viability and flowering of *Muscari armeniacum* in the second experiment- first and second year treated with Colchicine 0.05 درصد and 0.1 درصد and scoring under 24 h soaking time

کلشی سین (درصد) Colchicine	شاهد Control	0.05 (درصد)		0.1 (درصد)	
	Control شاهد	With Scoring با شکافدهی	Without Scoring بدون شکافدهی	With Scoring با شکافدهی	Without Scoring بدون شکافدهی
First Year سال اول					
Viability* درصد زنده‌مانی	100	65	85	25	35
Flowering درصد گلدهی	100	20	45	15	20
Second Year سال دوم					
Viability* درصد زنده‌مانی	100	60	70	0	40
Flowering درصد گلدهی	100	0	5	0	5

* درصد زنده‌مانی با توجه به درصد گیاهان زنده مانده در بین ۲۰ عدد سوخ تیمار شده در هر تکرار محاسبه شده است.

* Viability percentage was calculated based on 20 bulbs per replication.

همانطور که از بررسی منابع انتظار می‌رفت در طی آزمایش دوم مشخص شد که بهترین غلظت کلشی‌سین تیمار ۰/۰۵ درصد می‌باشد، غلظت‌های بالاتر تاثیر منفی بر زنده‌مانی و گلدهی داشتند. در بررسی امکان القاء پلی‌پلوپیدی در گیاه ریحان، تاثیر غلظت کلشی‌سین و مدت زمان تیمار و اثر متقابل آنها بر درصد زنده‌مانی گیاهان، معنی‌دار بود، به نحوی که پس از تیمار شاهد (غلظت صفر درصد کلشی‌سین) بیشترین درصد زنده‌مانی (۴۷/۴) مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین بود (۹)

مطابق نتایج تجربه واریانس (جدول ۴) در آزمایش اول-سال اول تاثیر مدت زمان تیمار با کلشی‌سین بر طول بلندترین برگ و طول دمگل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. تاثیر تیمار شکاف‌دهی بر طول بلندترین برگ و دمگل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) در آزمایش اول - سال دوم تاثیر مدت زمان تیمار کلشی‌سین بر عرض برگ و عرض روزنه معنی‌دار است. تیمار شکاف‌دهی بر عرض روزنه تاثیر معنی‌داری داشته است (جدول ۴). در سایر فاکتورهای ارزیابی شده تفاوت معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده مشاهده نشد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) در آزمایش اول-سال اول تاثیر زمان غوطه‌وری در کلشی‌سین بر طول برگ و طول دمگل

را نشان می‌دهد که مدت زمان تیمار ۱۲ ساعت با کلشی‌سین غلظت ۰/۰۵ درصد به نحو معنی‌داری بر صفت‌های طول برگ (۲۰/۶۹) و طول دمگل (۱۹/۷۲) تاثیر داشته است. تیمار ۲۴ ساعت نیز تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار ۱۲ ساعت کلشی‌سین در طول دمگل (۱۷/۰۶) نشان نمی‌دهد. در آزمایش اول-سال دوم تیمار ۱۲ ساعت کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به نحو معنی‌داری عرض برگ (۰/۶۳) و عرض روزنه‌ها (۰/۰۱۵) را افزایش داد (جدول ۴). با توجه به نتایج به دست آمده از تاثیر تیمار ۲۴ ساعت در آزمایش اول، در آزمایش دوم تنها تیمار ۲۴ ساعت با کلشی‌سین انتخاب و در کنار غلظت بالاتر کلشی‌سین نسبت به آزمایش اول ارزیابی شد. در آزمایش اول-سال اول مطابق نتایج مقایسه میانگین تاثیر تیمار شکاف‌دهی روی طول دمگل و طول برگ (جدول ۶) تیمار شکاف‌دهی به نحو معنی‌داری بر صفت‌های طول برگ و طول دمگل تاثیر داشته و بیشترین طول برگ (۲۱/۴۱) و طول دمگل (۱۹/۰۵) در تیمار عدم شکاف‌دهی حاصل شد. تیمار شکاف‌دهی همزمان با تیمار کلشی‌سین به نحو معنی‌داری طول برگ را ۱۷/۸ درصد و طول دمگل را ۴۴/۶ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۶). در آزمایش اول - سال دوم تیمار شکاف‌دهی به نحو معنی‌داری عرض برگ (۰/۴۳) را نسبت به عرض برگ (۰/۶۳) در تیمار عدم شکاف‌دهی کاهش داد.

جدول ۴- تجربه واریانس اثر تیمارهای کلشی‌سین و شکاف‌دهی بر برخی خصوصیات سنبلک *Muscari* (آزمایش اول - سال اول و سال دوم)
Table 4 - Analysis of variance of colchicine and scoring treatments on *Muscari armeniacum* characteristics, in first experiment - first and second year

منبع تغییرات S. O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Squares.					
		سال اول First Year				سال دوم Second Year	
		طول گلچه Raceme length	طول دمگل Peduncle length	طول برگ Leaf length	تعداد برگ Leaf number	عرض برگ Leaf width	عرض روزنه‌ها Stomata width
زمان غوطه‌وری Soaking Time	2	0.49 ns	24.92 *	74.11 *	1.5 ns	0.09 **	0.00002 *
شکاف‌دهی Scoring	1	0.60 ns	51.56 **	396.06 **	2 ns	0.17 **	0.00005 ns
شکاف‌دهی × زمان غوطه‌وری × Soaking Time	2	0.96 ns	0.96 ns	13.34 ns	3.5 ns	0.25 ns	0.00001 ns
خطا Error	12	0.41	4.68	15.78	1	0.005	0.00005
C.V. درصد		16	12.47	23.78	13.63	14.19	16.97

*** و ns: معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی‌دار

of probability level, and non-significant, respectively. *, **, ns: Significant at 5 and 1 درصد.

جدول ۵ - تاثیر تیمار با کلشی سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۲، ۲۴ و ۳۲ ساعت بر صفتهای بلندترین طول برگ و طول دم گل سنبلک *Muscari* در آزمایش اول - سال اول و سال دوم

Table 5 - The effect of treatment with colchicine % 0.05 on 12, 24 and 32 h on the longest leaf length and tail flower length traits of *Muscari armeniacum*, in first experiment- first and second year

سال Year	سال اول First Year	سال دوم Second Year
زمان غوطه وری Soaking Time	طول دمگل Peduncle Length (cm)	عرض روزنه Stomata Width (mm)
12 h	19.52 a	0.015 a
24 h	17.06 ab	0.015 a
32 h	15.43 b	0.011 b

In each column, means with similar letters are not significantly different using Duncan's multiple range test at 5 درصد of probability.

عددهای دارای حرفهای مشترک در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول ۶ - تاثیر تیمار شکاف‌دهی بر صفتهای طول بلندترین برگ و طول دم گل سنبلک *Muscari* - آزمایش اول - سال اول و سال دوم
Table 6 - Effect of scoring treatment on leaf length, peduncle length of *Muscari armeniacum* in first experiment- first and second year

سال Year	سال اول First Year	سال دوم Second Year
تیمار شکاف‌دهی Scoring treatment	طول دمگل Peduncle length (cm)	عرض برگ Leaf Width (cm)
بدون شکاف دهی Without Scoring	19.05 a	0.63 a
با شکاف دهی With Scoring	15.66 b	0.432 b

In each column, means with similar letters are not significantly different using Duncan's multiple range test at 5 درصد of probability.

عددهای دارای حرفهای مشترک در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

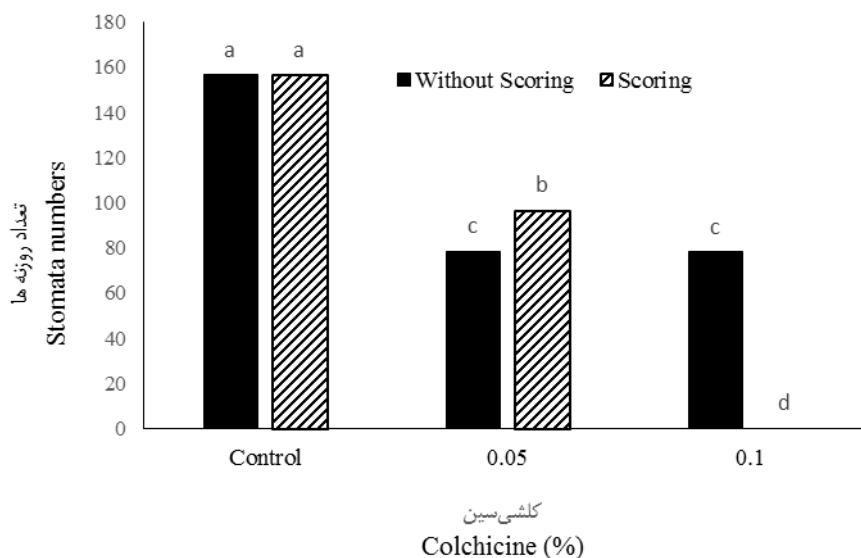
جدول ۷ - تجزیه واریانس تاثیر غلظت کلشی سین و تیمار شکاف‌دهی بر صفتهای مورفولوژیک و روزنه سنبلک *Muscari* در آزمایش دوم-سال دوم

Table 7 - ANOVA for the effect of colchicine concentration and cracking treatment on morphological and stomata traits of *Muscari armeniacum* in second experiment - second year

M.S.							
منابع تغییر S. O. V	درجه آزادی df	عرض روزنه‌ها Stomata width	طول روزنه‌ها Stomata length	تعداد روزنه‌ها Stomata number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	تعداد برگ Leaf number
کلشی سین Colchicine	1	0.00003 **	0.0006**	7056 **	2.88 **	0.23 **	56.33 **
شکاف‌دهی Scoring	1	0.00008**	0.002 **	2730 **	13.02 **	0.31 **	16.33 **
کلشی سین × شکاف دهی Colchicine× Scoring	2	0.0001 **	0.001 **	6960 **	12.16 **	0.45 **	21.33 **
خطا Error	8	0.00008	0.00002	102.25	4.87	0.009	0.58
CVدرصد		21.65	16.21	15.94	17.71	19.75	16.36

** و * و ns به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح ۱ درصد، معنی داری در سطح ۵ درصد و غیر معنی داری هستند.

and non significant, respectively. درصد5, **, * and ns indicate significantly different at 1



شکل ۱ - تاثیر بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکافدهی بر صفت تعداد روزنه سنبلک *Muscari* - آزمایش دوم.
Figure 1 - Interaction effect of colchicine concentration × scoring on stomata numbers of *Muscari armeniacum* - second experiment.

شکافدهی تحت دو تیمار ۰/۱ درصد و ۰/۰۵ درصد مشاهده نشد (شکل ۱). به طوری که میانگین تراکم روزنه‌ها در سوخ‌های شکافدهی نشده در شاهد برابر با ۱۵۶/۶ عدد در یک میلی‌متر مربع و در نمونه‌های تیمار شده با کلشی‌سین غلظت ۰/۰۵ درصد برابر با ۷۸/۶ عدد در یک میلی‌متر مربع و در غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین برابر با ۷۸/۳ عدد در یک میلی‌متر مربع بود (شکل ۱).

کاهش تراکم روزنه‌ها در سوخ‌های تیمار شده با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد بدون تیمار شکافدهی نشان می‌دهد که این غلظت از کلشی‌سین طی تیمار زمانی ۲۴ ساعت می‌تواند برای امکان القاء پلی پلویدی در سنبلک را افزایش دهد. مطالعه میانگین تراکم روزنه‌ها در نمونه‌های دیپلوئید گیاه ریحان نشان داد که میانگین تراکم روزنه‌ها در یک میلی‌متر مربع از گیاهان دیپلوئید ۲۰/۸ عدد در یک میلی‌متر مربع و در نمونه‌های تتراپلوئید ۷/۵۸ عدد در یک میلی‌متر مربع می‌باشد (۱۰). در اکثر گزارش‌ها افزایش سطوح پلوئیدی باعث کاهش تعداد روزنه‌ها و در عین حال افزایش اندازه آنها می‌گردد. بررسی این فاکتور در برخی گیاهان به عنوان روشی مناسب ارزیابی گردیده است (۱۱). در گیاه رازک طول و عرض روزنه‌ها به عنوان پارامتر مناسبی برای شناسایی گیاهان تتراپلوئید معرفی شده است (۱۲). در این تحقیق نیز تغییرات اندازه روزنه‌ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل‌های (۲ و ۳) نشان داده شده است.

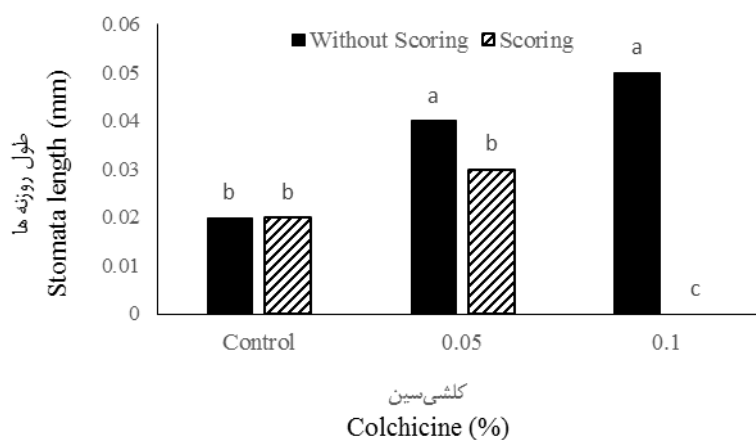
تفاوت معنی داری در نتایج آزمایش دوم - سال اول تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده مشاهده نشد. مطابق نتایج جدول تجربه واریانس (جدول ۷) از آزمایش دوم - سال دوم غلظت‌های مختلف کلشی‌سین و شکافدهی تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر صفت‌های مورفولوژیک تعداد برگ، عرض برگ، طول بلندترین برگ و همچنین بر تعداد، طول و عرض روزنه‌ها داشتند. در آزمایش دوم - سال دوم تعداد برگ و طول برگ در تیمارهای کلشی‌سین نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۷)، این تفاوت معنی دار به علت عدم سبز شدن سوخ‌های تیمار شده با ۰/۱ درصد کلشی‌سین می‌باشد. تفاوت بین سایر تیمارهای معنی دار نبود.

نتایج حاصل از مقایسه تراکم روزنه‌ها در یک میلی‌متر مربع از سطح فوقانی برگ در شاهد و گیاهان تیمار شده با کلشی‌سین در مرحله توسعه برگ‌ها در آزمایش دوم - سال دوم نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکافدهی بر صفت تعداد روزنه در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (شکل ۱). به نحوی که سوخ‌های شکافدهی شده در کلشی‌سین ۰/۱ درصد اصلاً سبز نشدند و سوخ‌های تیمار شده با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد نیز به نحوی معنی داری تعداد روزنه کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (شکل ۱). در همین غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین سوخ‌های شکافدهی شده به نحو معنی داری از تراکم روزنه بیشتری نسبت به سوخ‌های شکافدهی نشده برخوردار بودند (شکل ۱) این در حالی است که تفاوت معنی داری در تراکم روزنه‌ها بین سوخ‌های بدون



شکل ۳ - A. نمونه ای از سنبلک‌های *Muscari* تحت آزمایش B. اندازه گیری قطر سوخ C. تراکم روزنه در نمونه سوخ تیمار شده با کلشی سین ۰/۰۵ (درصد) D. تراکم روزنه در نمونه شاهد (عدم تیمار کلشی سین).

Figure 3 A - *Muscari armeniacum* plant B. Bulb diameter measurement C. Stomata density in Musacri which treated with colchicine 0.05% D. Stomata density in the control plants.



شکل ۲ - تاثیر بر همکنش غلظت کلشی سین × شکاف‌دهی بر صفت طول روزنه سنبلک *Muscari*، آزمایش دوم

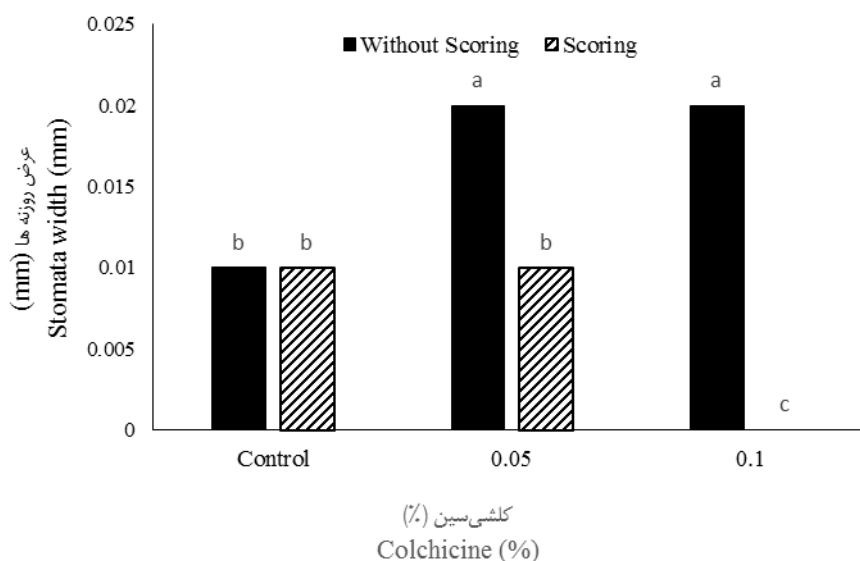
Figure 2 - Interaction effect of colchicine concentration × scoring on stomata length of *Muscari armeniacum*- second experiment.

تاثیر معنی‌داری بر صفت عرض روزنه داشته است. تفاوت معنی‌داری در صفت عرض روزنه بین غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تحت تاثیر تیمار عدم شکاف‌دهی مشاهده نشد، ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی‌دار بود (شکل ۳) به نحوی که عرض و طول روزنه‌ها نسبت به شاهد تا دو برابر افزایش نشان داد (شکل ۲ و ۳). تیمار شکاف‌دهی و غلظت ۰/۱ درصد کلشی سین به شدت درصد زنده ماندن و درصد گل‌دهی را کاهش داد در حالیکه تاثیر معنی‌داری در امکان القاء پلی‌پلویدی در سوخ‌های سنبلک ایجاد نکرد. در مقایسه دو غلظت کلشی سین با

تاثیر بر همکنش غلظت کلشی سین × شکاف‌دهی بر صفت طول روزنه نشان داد غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی سین و تیمار بدون شکاف‌دهی تاثیر معنی‌داری بر طول روزنه داشته است (شکل ۲). تفاوت معنی‌داری در صفت طول روزنه بین غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد بدون تیمار شکاف‌دهی مشاهده نشد، ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی‌دار بود (شکل ۲). همچنین مطابق نتایج ارائه شده در شکل (۳) بر همکنش غلظت کلشی سین × شکاف‌دهی بر صفت عرض روزنه، غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد کلشی سین و تیمار شکاف‌دهی نیز

در تیمار ریشه گیاه ریحان با غلظت‌های صفر، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد کلشی‌سین در مرحله چهار تا شش برگ، بالاترین درصد گیاهان تتراپلوئید (۸ درصد) را در تیمار با غلظت ۰/۰۵ درصد گزارش نمودند (۱۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین در مدت زمان ۱۲ ساعت بالاترین درصد زنده‌مانی و گلدهی وجود دارد. همچنین در این غلظت کاهش تراکم روزنه‌ها و افزایش طول و عرض روزنه‌ها گزارش شده است.

اطمینان می‌توان گفت که غلظت ۰/۰۵ درصد و بدون تیمار شکاف‌دهی می‌تواند برای القاء پلی پلوئیدی مناسب باشد. تحقیقات انجام گرفته توسط پژوهشگران نشان می‌دهد که غلظت موثر برای القای پلی پلوئیدی در گیاهان مختلف متفاوت است. بذور *Arctium lappa* با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد به مدت یک تا چهار روز تیمار شدند، در این تحقیق با افزایش غلظت کلشی‌سین و زمان اعمال تیمار به شدت مرگ‌ومیر و ناهنجاری افزایش یافت (۱۳).



شکل ۴ - تاثیر بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکاف‌دهی بر صفت عرض روزنه سنبلک *Muscari*، آزمایش دوم

Figure 4 - Interaction effect of colchicine concentration × scoring on stomata width of *Muscari armeniacum*, the second experiment.

سمیت کلشی‌سین کاهش یافت. برای رفع آسیب به زنده‌مانی گیاه شستشوی سوخ‌ها بعد از تیمار غوطه ور سازی در کلشی‌سین قبل از کاشت توصیه می‌شود. از طرف دیگر باید توجه داشت تیمار شکاف‌دهی تاثیر منفی داشته و مناسب نیست. تیمارهای منتخب تحقیق انجام شده (۰/۰۵ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت) با کاهش تراکم روزنه‌ها، افزایش طول و عرض روزنه‌ها و بهبود گلدهی در سال دوم امکان القای پلی پلوئیدی در سوخ‌ها و سوخک‌های سنبلک را افزایش دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که همبستگی منفی بین تراکم روزنه و امکان القاء پلوئیدی وجود دارد و این همبستگی منفی می‌تواند به عنوان ابزار متمایز کننده ای در گیاهان با سطوح پلوئیدی متفاوت در گیاهان مختلف مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). تعیین غلظت و مدت زمان تیمار با مواد افزاینده سطح پلوئیدی از قبیل کلشی‌سین، در یک برنامه القاء پلی پلوئیدی موفق ضروری است و برای هر ژنوتیپ باید به طور جداگانه بهینه شود. ارزیابی‌های درصد زنده‌مانی، درصد گلدهی، ویژگی‌های مرفولوژیکی و ویژگی‌های روزنه برگ مانند تراکم پایین و طول بیشتر روزنه در

نتیجه‌گیری

غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین در مدت زمان ۱۲ ساعت بهترین تیمار برای تولید سوخ‌های پلی پلوئید است، درصد زنده‌مانی و گلدهی و همچنین تغییر در صفت‌های مورفولوژیک و کاهش تراکم روزنه‌ها و افزایش طول و عرض روزنه‌های سوخ در این تیمار قابل قبول است. همچنین غلظت بالای کلشی‌سین اثر زیادی در افزایش میزان درصد مرگ‌ومیر و کاهش درصد گلدهی در سوخ‌های تیمار شده داشت. در سوخ‌هایی که تحت تیمار غلظت بالاتر کلشی‌سین و شکاف‌دهی قرارداشتند، شکاف‌دهی تاثیر منفی بر رشدونمو و گلدهی آنها داشت. در نهایت مشخص شد که غوطه‌ورسازی در کلشی‌سین به مدت ۳۲ ساعت در سال دوم موجب بیشترین درصد زنده‌مانی و گلدهی خواهد شد بنابراین در تیمار گل‌های سوخ‌دار مانند سنبلک باید غلظت کمتر و زمان‌های تیمار بیشتر را استفاده کرد و غلظت بالا در حدود ۰/۱ درصد باعث آسیب به بافت گیاه خواهد شد. با افزایش غلظت و مدت زمان تیمار با کلشی‌سین، درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها به دلیل افزایش

پيازهای تیمار شده با کلشی سین نسبت به شاهد، شاخص‌های مفیدی
جهت پیش‌غربالگری سریع در القاء پلی پلوئیدی جهت استفاده در
مطالعات بعدی می باشند

منابع

1. Kamenetsky R., and Okubo H. 2012. Ornamental Geophytes [Internet]. CRC Press. Available from: <http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/b12881>
2. Nowak J., and Rudnicki R.M. 1993. Hyacinthus. The physiology of flower bulbs. 335–47.
3. De Hertogh A., and Le Nard M (Eds). 1993. The Physiology of Flower Bulbs. Amsterdam, Netherlands. Elsevier Science.
- 4.
5. McDonald M.B., and Kwong F.Y. 2005. Flower seeds: biology and technology [Internet]. McDonald MB, Kwong FY, editors. Flower seeds: biology and technology. Wallingford: CABI. Available from: <http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20053005270>
6. Alan A.R., Lim W., and Mutschler M.A. 2007. Earle ED. Complementary strategies for ploidy manipulations in gynogenic onion (*Allium cepa* L.). Plant Science. 173(1):25–31. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945207001057>
7. Jia M., Fei W., Aiping J.I.A., and Lina Z. 2011. Colchicines Induced Polyploid Plants of *Muscari armeniacum*. Acta A griculturae Boreali-occidentalis Sinica. 20:114–8.
8. Voleníková M., and Tichá I. 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. Biologiacal Plantarum. 44(2):161–5. Available from: <http://link.springer.com/10.1023/A:1017982619635>
9. Malekzadeh Shafarodi S., Ghanni A., Habibi M., and Amiri A. 1390. Evaluation possibility of polyploidy induction in *Ocimum basilicum*. Iranian journal of horticulture science. 25:461–9.
10. Omidbaigi R., Mirzaee M., Hassani M.E., and Moghadam M.S. 2010. Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. International Journal of Plant Production. 4(2):87–98.
11. Thao N.T.P., Ureshino K., Miyajima I., Ozaki Y., and Okubo H. 2003 Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicine and oryzalin treatment. Analyzer. 19–25.
12. Roy A., Leggett G., Koutoulis A. 2001. In vitro tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in hop (*Humulus lupulus* L.). Plant Cell Reports [Internet]. 1; 20(6):489–95. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s002990100364>
13. Kuang Q., Liang G., Guo Q., and Li X. 2004. Polyploid induction of *Arctium lappa* by colchicine. Plant Physiology Communications. 40(2):157–68. Available from: <https://europepmc.org/abstract/cba/399005>
14. Vandenhoust H., Ortiz R., Vuylsteke D., Swennen R., and Bai K. V. 1995. Effect of ploidy on stomatal and other quantitative traits in plantain and banana hybrids. Euphytica. 83(2):117–22.



Possibility of Polyploidy Induction in *Muscari armeniacum* Bulbs by Scoring and Colchicine Treatments

A. Ramezan Ghanbari¹- I. Rohollahi^{2*}

Received: 31-08-2019

Accepted: 16-11-2019

Introduction: The genus *Muscari* has 47 species according to the World Checklist of Selected Plant Families. *M. armeniacum*, belonging to the family Asparagaceae, is cultivated in pots and gardens in the temperate regions. *Muscari armeniacum* is commonly known as grape hyacinth owing to its clusters of small, bell-shaped, cobalt-blue flowers that look like clusters of upside-down grapes. Traditional methods of propagation of *Muscari* species are rather slow, since the bulblet production from the mother bulbs is extremely low. *Muscari* as a cold resistance, bulbous flower with blue color and tendency to flowering many times can be used in many prospects. On the other hand, the color of *M. neglectum* is precious as natural pigment, and it has many beneficial and useful compounds that may support human health. Traditionally, scoring facilitated the in vitro and ex-situ propagation of bulbous flower. The manipulation of ploidy is a valuable tool in improving crops. Out of many applicable methods, the use of chemicals to induce changes in chromosome number has been well established. Colchicine has been successfully applied to induce polyploidy in a series of crop species. The chromosome reduplication of *Muscari armeniacum* can be induced with mixed and soaked colchicine.

Material and Methods: Mature bulbs of *Muscari armeniacum* were bought online (www.flowerbulbsholland.com). After treatments in first and second experiment, bulbs were cultivated in experiment garden. Polyploidy induction and viability percentage by colchicine and scoring in *Muscari* were evaluated separately in tow factorial experiment based on the completely randomized design with three replications for two years. In the first experiment colchicine, 0.05% by 12, 24 and 32 hours of soaking time under scoring (with scoring and without scoring) treatment were evaluated. Finally, morphological traits such as raceme length, leaf length, leaf number, leaf width, and peduncle length were evaluated and in second year morphological traits, as well as microscopic traits including stomata numbers, stomata densities, stomata length and width were evaluated. In the second experiment, colchicine 0.05 and 0.1% with 24 h soaking time and scoring (with scoring and without scoring) treatment in three replications were examined according to the first experiment details. Five well expanded leaves of each plant were selected to measurement and scoring the size and density of stomata. Three samples of epidermal cells were obtained from lower surface by nail varnish technique. A small area of abaxial side of leaves was covered with thin layer of clear nail polish and left to dry. After drying the polish, it was removed with a tip forceps then placed on a glass slide and observed through the light microscope at 400 x magnification and studied by digital image processing and analysis. Stomatal density, length and width were measured for each image. Stomatal elongation was counted as the ratio of stomatal length and stomatal width.

Results and Discussion: Results of the first experiment showed the heights viability (100%) and flowering (55%) in non-scoring bulbs and 12 hours colchicine treatments. Also the lowest viability (55%) and flowering displayed in 32 hours colchicine and scoring treatments. At the second year of first experiment the highest viability percentage (75%) and flowering (10%) indicated in non-scoring bulbs and 32 hours colchicine treatment. The lowest viability (30%) and flowering (0%) percentage showed in 12 hours colchicine treatment with scoring bulbs. At the second year of first experiment 12 hours colchicine 0.05% significantly increased leaf width (0.63) and stomata width (0.015). Based on our results in the first experiment, in second experiment only 24 hours colchicine 0.1% treatment was evaluated. At the second year of second experiment colchicine and scoring interaction treatments had significant effects on stomata numbers. Bulbs that were scored and treated with colchicine 0.1% didn't germinate and colchicine 0.05% decreased stomata density significantly compared to control.

1 and 2- M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Shahed University

(*-Corresponding Author Email: I.rohollahi@shahed.ac.ir)

Conclusions: The results of the experiment showed that colchicine 0.05% in 12 h of soaking time is one of the best treatment for *Muscari* polyploidy induction. Whereas, 32 h colchicine 0.05% treatment showed the highest flower percentage and viability in second year. Also, scoring and colchicine 0.1% had a negative effect on the viability and the flowering percentage. High colchicine concentration and scoring treatment decrease viability and flowering. Finally, colchicine 0.05% for 24 h without scoring could increase the possibility to induce ploidy.

Keywords: Bulb flower, Propagation, Stomata, Viability.

Contents

A Comparison of Morphological Characteristics, Composition and Essential Oils Content of <i>Thymus vulgaris</i> and Two Landraces of <i>Thymus transcaspicus</i> in Mashhad Region Climate	576
S. Mohammadi - M. Azizi- J. Vaezi	
<i>In Vitro</i> Shoot Proliferation of <i>Pyrus communis</i> cv. 'Shekari' in Different Medium Nutrition by Design Expert Software	591
S. Karimpour - Gh.H. Davarynejad- M. Zaki-AGhl- M.R. Safarnejad	
The Impact of Sudden Low Temperature Stress of Root and Shoot on the Recovery of some of Vegetative and Physiological Traits of Tomato in the Presence of Boron	608
F. Dezhabad - M. Haghighi	
Investigation of Correlation of Enzymatic Browning fruit tissue and Amount of Phenolic Compounds, Flavonoid, and Anthocyanin Red-flash and Some Iranian Spring Apple Cultivars	622
B. Abedi - T. Parvaneh- E. Ardakani	
Investigating of Antioxidant Enzymes and Proline Changes During the Flowering Bud Dormancy in Several Cherry Cultivars	637
A. Angouti - J. Haji-lou- F. Razavi	
Determination of the Appropriate Harvest Time and Storability of some Cultivars and Promising Genotypes of Quince (<i>Cydonia oblonga</i> Mill.) in Cold Storage Conditions	653
M. Tatari - M. Mahlouji- E. Ghorbani	
Effect of Different Drying Methods on Drying Time and some Phytochemical Characteristic of Pelargonium (<i>Pelargonium graveolens</i>)	668
H. Mumivand - H. Rezaei Nejad- Sh. Taghipour- K. Sepahvand- B. Moradi	
The Role of Various Fertilizer Formulations on <i>in vitro</i> Derived Gerbera Plantlets (<i>Gerbera jamesonii</i>) during Acclimatization Phase	683
A. Sharifi - M. Kharrazi- S. Nejatizadeh- A. Khadem- M. Moradian	
Effect of Different levels of Seaweed Fertilizer on Growth Parameters, Yield and Essential Oil Content of Summer Savory (<i>Satureja hortensis</i> L.)	696
A. Rezaei - M.T. Ebadi- H. Pirani	
Study of the Effect of Habitat on Morphological and Phytochemical Traits of Horsemint (<i>Mentha longifolia</i> L.)	710
M. Eisapoor - Kh. Hemmati- N. Hemmati	
Effect of Fulvic Acid and Iron Nano Chelate Application on Flowering and Vase Life of <i>Gerbera jamesonii</i> cv. Dune	725
S. Hajizadeh - Z. Jabbarzadeh- M.H. Rasouli-Sadaghiani	
Simulation of Germination Response of Watermelon (<i>Citrullus lanatus</i> Thunb.) to Temperature and Water Potential	741
S.F. Saberali - H. Nastari Nasrabadi - Z. Shirmohamadi Ali AkbarKhani	
Determination of the Most Important Factors Affecting Yield of Olive (<i>Olea europaea</i> L.) Orchards in the North of Iran	755
A.Ajili Lahiji - A. Mohammadi Torkashvand - A. Mehnatkesh and Mirnaser Navidi	
Effect of some Organic Mulches on Cold Resistance of <i>Aquilegia</i> sp.	768
Y. Selahvarzi - M. Kamali- J. Nabati- H. Ahmadpourmir	
Effect of Jasmonic and Salicylic Acid on Antioxidant Enzymes, PAL and Phenolic Compounds in <i>Stevia rebaudiana bertonii</i>	780
F. Rasouli -M. Gholipoor -K. Jahanbin- H.R. Asghari	
Possibility of Polyploidy Induction in <i>Muscari armeniacum</i> Bulbs by Scoring and Colchicine Treatments	792
A. Ramezan Ghanbari - I. Rohollahi	

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 33

No. 4

2020

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:

Tehranifar, A.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Arouiee, H.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Khanizadeh, S.H.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
Davarynejad, G.H.	Horticultural Sciences	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Haghighi, M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Isfahan University of Technology.
Tavakkol Afshari, R.	Seed Physiology	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Azizi, M.	Medicinal Plants	Prof. Ferdowsi University of Mashhad.
Sharifani, M.M.	Horticultural Sciences	Asso. Prof. Gorgan University of Agricultural Science & Natural Resources.
Shoor, M.	Horticultural Sciences	Asso. 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.
Zamani, Z.	Horticultural Sciences	Prof. University of Tehran, Iran

Publisher: Ferdowsi University of Mashhad.

Printed by: Ferdowsi University of Mashhad, press.

Address: College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

P.O.BOX: 91775- 1163

Tel: +98-0511- 8795620

Fax: +98-0511- 8787430

E-Mail: Jhorts4@um.ac.ir

Web Site: <http://jm.um.ac.ir>