

عنوان مقالات

- ۱۹۷ جوانه‌زنی جنین بالغ یکان (*Carya illinoensis*) در شرایط درون شیشه‌ای
مینا غزایی یان- غلامحسین داوری نژاد- کمال قاسمی بزدی- حسین نعمتی
- ۲۰۷ اثر روش‌های مختلف پیوند بر رشد رویشی و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی رقم "اس‌وی ۸۰"
حمیدیه عینی گرسدفی- بهمن زاهدی- فاطمه مرادی پور
- ۲۲۱ تأثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی
محسن مرادی- فرهنگ رضوی- ولی ربیعی- مرتضی سلیمانی اقدم- لیلا صالحی
- ۲۳۱ بررسی اثرات غلظت بی‌کربنات کلسیم بر واکنش فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN
علی ایمانی- خسرو پرویزی- حمداالله بیرامی جم- ابراهیم هادوی
- ۲۴۷ بررسی میزان تغییرات خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف پولک (*Stachys inflata Benth.*) در استان همدان
مهتاب صالحی- رمضان کلوندی
- ۲۶۱ انتخاب بستر کشت بهینه جهت پرورش گیاه ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در سیستم کشت هیدروپونیک
سیده مهدیه خرازی- احمد شریفی- صبا نجاتی زاده- آزاده خادم- مریم مرادیان
- ۲۷۳ بررسی توانایی سویه‌های مختلف *Agrobacterium rhizogenes* در القای ریشه موئین و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*)
مریم زارع حسن آبادی- علی گنجعلی- مهرداد لاهوتی- نسرين مشتاقی
- ۲۸۵ اثر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد، محتوای نیترات، عملکرد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی چهار رقم ریحان
فرج موبدی- سجاد کردی- علی اشرف مهرابی- سهیلا دست برهان
- ۳۰۳ ارزیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانه‌های پسته گونه اهلی در تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه اینتگریمما به منظور دسترسی به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی
حسن فرهادی- محمد مهدی شریفانی- مهدی علیزاده- حسین حکم آبادی- ساسان علی نیایی فرد
- ۳۲۱ تأثیر مثبت سلنیوم بر کاهش تجمع نیترات در اسفناج (*Spinacia oleracea L.*) و کاهو (*Lactuca sativa L.*)
محبوبه جلالی- نگین صالحی چگنی
- ۳۳۵ ارزیابی اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی ژربرا (*Gerbera jamesonii* Bolus. cv. Artist)
فاطمه قربانعلی‌زاده- مهناز کریمی- کامران قاسمی- مهرناز حاتمی
- ۳۴۹ تأثیر غلظت‌های مختلف آهن و رژیم پلکانی آهن بر برخی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و خصوصیات گلدهی گیاه همیشه بهار
زینب ایزدی- عبدالحسین رضایی نژاد

Contents

- In Vitro* Mature Embryo Germination of Pecan (*Carya illinoensis*) 206
M. Ghazaeian - Gh.H. Davarynejad- K. Ghasemi Bezdi- H. Nemati
- Effect of Different Grafting Methods on Vegetative Growth and Yield of Tomato Fruit 219
H. Eini Garsadafi - B. Zahedi -F. Moradi poor
- Effects of Gamma-aminobutyric Acid Treatment on Postharvest Chilling Injury on Tomato Fruit 230
M. Moradi- F. Razavi-V. Rabiei- M.S. Aghdam- L. Salehi
- Evaluation of Calcium Bicarbonate Effects on Physiological Reaction and Growth Indices of Almond Cultivars Grafted on GN Rootstock 246
A. Imani - K. Parvizi - H. Beyrami Jam - E. Hadavi
- Evaluation of Morphological and Phytochemical Characteristics Changes in Different Populations of *Stachys inflata* Benth. in Hamedan Province 260
M. Salehi - R. Kalvandi
- Selection of Optimal Cultivation Media for Gerbera (*Gerbera jamesonii*) Growth in the Hydroponic Culture System 271
M. Kharrazi - A. Sharifi- S. Nejatizadeh- A. Khadem- M. Moradian
- Influence of Different *Agrobacterium rhizogenes* Strains on Hairy Roots Induction and Secondary Metabolites Production in *Ocimum basilicum L.* 284
M. Zare Hasan Abadi - A. Ganjeali- M. Lahouti- N. Moshtaghi
- Effect of Different Levels of Nitrogen on Yield, Nitrate Content, Essential Oil Yield and some Physiological Traits in Four Cultivars of Sweet Basil (*Ocimum basilicum L.*) 301
F. Moayeddi - S. Kordi- A.A. Mehrabi- S. Dastborhan
- Evaluation of some Vegetative and Physiological Traits of Domestic Pistachio Seedlings in Controlled Crosses with Integerrima Pollen Grains in Order to Access Drought Tolerant Genotypes 319
H. Farhadi - M. Sharifani- M. Alizadeh- H. Hokmabadi- S. Aliniaiefard
- The Positive Effect of Selenium on Nitrate Accumulation in Spinach (*Spinacia oleracea L.*) and Lettuce (*Lactuca sativa L.*) 334
M. Jalali - N. Salehi Chegeni
- Evaluation the Effect of Water Hyacinth and Humic Acid Compost on some Morphophysiological and Biochemical Properties of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus. cv. Artist) 347
F. Ghorbanalizade - M. Karimi- K. Ghasemi- M. Hatami
- Effect of Different Iron Concentrations and Staircase Iron Regime on Some Morphological, Biochemical and Flowering Characteristics of *Calendula officinalis* 360
Z. Izadi - A. Rezaei Nejad

نشریه علوم باغبانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

۲۱/۲۰۱۵

۲۶۵۲۴

با شماره پروانه _____ و درجه علمی - پژوهشی شماره _____ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
۶۸/۴/۱۱ ۷۳/۱۰/۱۹

تابستان ۱۳۹۹

شماره ۲۵

جلد ۳۴

بر اساس مصوبه وزارت عتف از سال ۱۳۹۸، 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:

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

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 آیداهوی آمریکا

استاد - ژنتیک و اصلاح نباتات (دانشگاه فردوسی مشهد)

استاد - گلکاری و مهندسی فضای سبز (دانشگاه تهران)

استاد - فیزیولوژی گیاهی (دانشگاه فردوسی مشهد)

نشانی: مشهد - کد پستی ۹۱۷۷۵ صندوق پستی ۱۱۶۳ دانشکده کشاورزی - دبیرخانه نشریات علمی - نشریه علوم باغبانی نامبر: ۸۷۸۷۴۳۰

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 (۴ شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مندرجات

- ۱۹۷ جوانه‌زنی جنین بالغ پکان (*Carya illinoensis*) در شرایط درون شیشه‌ای
مینا غزایی یان- غلامحسین داوری نژاد- کمال قاسمی بزدی- حسین نعمتی
- ۲۰۷ اثر روش‌های مختلف پیوند بر رشد رویشی و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی رقم "اس‌وی ۸۰"
حمیدیه عینی گرسدقی- بهمن زاهدی- فاطمه مرادی پور
- ۲۲۱ تأثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی
محسن مرادی- فرهنگ رضوی- ولی ربیعی- مرتضی سلیمانی اقدم- لیلا صالحی
- ۲۳۱ بررسی اثرات غلظت بی‌کربنات کلسیم بر واکنش فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN
علی ایمانی- خسرو پرویزی- حمدالله بیرامی جم- ابراهیم هادوی
- ۲۴۷ بررسی میزان تغییرات خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف پولک (*Stachys inflata Benth.*) در استان همدان
مهتاب صالحی- رمضان کلوندی
- ۲۶۱ انتخاب بستر کشت بهینه جهت پرورش گیاه ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در سیستم کشت هیدروپونیک
سیده مهدیه خرازی- احمد شریفی- صبا نجاتی زاده- آزاده خادم- مریم مرادیان
- ۲۷۳ بررسی توانایی سویه‌های مختلف *Agrobacterium rhizogenes* در القای ریشه موئین و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum L.*)
مریم زارع حسن آبادی- علی گنجعلی- مهرداد لاهوتی- نسربین مشتاقی
- ۲۸۵ اثر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد، محتوای نیترات، عملکرد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی چهار رقم ریحان
فرج مویدی- سجاد کردی- علی اشرف مهرابی- سهیلا دست برهان
- ۳۰۳ ارزیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانه‌های پسته گونه اهلی در تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه ایتنگریما به منظور دسترسی به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی
حسن فرهادی- محمد مهدی شریفانی- مهدی علیزاده- حسین حکم آبادی- ساسان علی نیائی فرد
- ۳۲۱ تأثیر مثبت سلنیوم بر کاهش تجمع نیترات در اسفناج (*Spinacia oleracea L.*) و کاهو (*Lactuca sativa L.*)
محبوبه جلالی- نگین صالحی چگنی
- ۳۳۵ ارزیابی اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژربرا (*Gerbera jamesonii* Bolus. cv. Artist)
فاطمه قربانعلی‌زاده- مهناز کریمی- کامران قاسمی- مهرناز حاتمی
- ۳۴۹ تأثیر غلظت‌های مختلف آهن و رژیم پلکانی آهن بر برخی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و خصوصیات گلدهی گیاه همیشه بهار
زینب ایزدی- عبدالحسین رضایی نژاد



مقاله علمی-پژوهشی

جوانه زنی جنین بالغ پکان (*Carya illinoensis*) در شرایط درون شیشه‌ای

مینا غزایی یان^۱ - غلامحسین داوری نژاد^{۲*} - کمال قاسمی بزدی^۳ - حسین نعمتی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۰۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۲

چکیده

پکان یا گردوی گرمسیری (*Carya illinoensis*) از خانواده گردوئیان (Juglandaceae) و از محصولات خشکباری با ارزش می‌باشد. این گیاه از معدود میوه‌های خشکبار است که در مناطق نیمه گرمسیری کشور قابل کشت است. مهم‌ترین روش تکثیر پکان استفاده از پیوند است. بیشترین پایه تجارتی مورد استفاده برای پیوند پکان، نهال‌های بذری خود پکان است. تولید کنندگان نهال معمولاً بذور حاصل از گرده افشانی آزاد را جهت تولید نهال بذری استفاده می‌کنند. بذری برای پایه معمولاً از درختان قوی و یکنواخت گرفته می‌شود. در این آزمایش که به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد، اثر دو نوع محیط کشت، تعدادی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و سرمادهی بذور بر روی جوانه زنی جنین بالغ پکان در شرایط درون شیشه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. محیط کشت‌های مورد استفاده شامل محیط کشت موراشی و اسکوگ (MS) و محیط کشت درختان چوبی (WPM) بودند. تنظیم کننده‌های رشد گیاهی شامل ایندول بوتیریک اسید (صفر و یک میلی گرم در لیتر)، بنزیل آمینو پورین (صفر، یک و دو میلی گرم در لیتر) و جیبرلیک اسید (صفر و یک میلی گرم در لیتر) بودند. تیمار سرمادهی بذور به مدت ۱۵ روز در دمای ۵ درجه سانتی گراد اثر مثبتی بر روی درصد جوانه زنی و طول ساقه نداشت. نتایج نشان داد که بین محیط کشت‌ها اختلاف معنی داری از نظر میزان جوانه زنی در هر دو تیمار سرمادهی بذور و کشت بلافاصله بعد از برداشت (بدون سرمادهی) وجود داشت. بر این اساس بیشترین جوانه زنی در محیط کشت MS بود. همچنین بهترین رشد گیاهچه در محیط کشت MS با میزان یک میلی گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید، یک میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک و دو میلی گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: ازدیاد، جنین، کشت درون شیشه‌ای، گردوسانان

مقدمه

تک تک که بر روی چوب یک ساله به صورت جانبی ظاهر می‌شوند و دارای ۷-۳ پرچم در هر گل و کاسبرگ‌ها ۳-۲ لبه‌ای است. گل‌های ماده به شکل اسپایک بوده و در انتهای شاخه‌های حاصل از رشد فصل جاری در دسته‌های ۲ تا ۱۰ تایی ظاهر می‌شوند. هر یک از گل‌ها دارای برگه یا براکته است و تخمدان تک حجره‌ای می‌باشد. میوه به شکل گرد و یا تخم‌مرغی کشیده که دانه آن دارای یک پوشینه گوشتی یا هاسک می‌باشد و این پوشینه دارای چهار قاچ است که صاف و کمی زبر و برجسته هستند. دانه پوشیده از پوسته ضخیم یا نازک است. مغز دانه یا بذری آن دارای مزه شیرین است. میوه‌ها به صورت انتهایی بر روی شاخه‌های حاصل از رشد فصل جاری دیده می‌شوند (۲۵). پکان تنها جنس از خانواده گردوسانان است که شرایط گرم مناطق را به خوبی تحمل می‌کند (۲).

از نظر گرده افشانی این گیاهان اغلب دارای حالت دیکوگامی هستند. یعنی بین زمان پراکنش گرده با زمان پذیرش مادگی تطابق وجود ندارد. بر این اساس ارقام پکان به دو گروه پروتاندروس (نر پیش رس) و پروتوژینوس (ماده پیش رس) تقسیم می‌گردند (۱). لذا جهت حصول عملکرد مطلوب و میوه با کیفیت در زمان احداث باغ

خانواده گردوسانان یا Juglandaceae دارای ۷ جنس و حدود ۶۰ گونه می‌باشد. جنس جوگلانز (*Juglans*) و کاریا (*Carya*) از جمله مهم‌ترین جنس‌های این خانواده می‌باشند که دارای ارزش تجاری و اقتصادی هستند. پکان ($X=16$)، از جنس کاریا، با ۳۲ عدد کروموزوم، درختانی بزرگ، خزان کننده با پوست خشن به ارتفاع حداکثر ۵۰ متر و قطر تنه ۱۸۰ سانتی متر می‌باشند. ریشه‌ها معمولاً عمیق و محوری هستند (مشابه گردو) و دارای ریشه‌های فرعی سطحی می‌باشند. گل‌ها تک پایه، تک جنس، پرچم‌ها سه شاخه، گل‌ها ناقص و فاقد گلبرگ و کاسبرگ و به رنگ سبز می‌باشند. گل‌های نر به شکل شاتون‌های خوشه‌ای باریک و دراز و گاهی دارای گل‌های

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی و فضای

سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

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

۳- عضو هیأت علمی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه

تحقیقات پنبه کشور، گرگان، ایران

می‌بایست ارقامی مورد کشت و کار قرار گیرند که از نظر زمان گرده‌افشانی با هم تطابق زمانی داشته باشند.

جنین در گیاهان یک ساختار چندسلولی است که توانایی تولید یک گیاه جدید را دارا است. جنین گیاهی آغازگر نسل اسپوروفیتی می‌باشد و ممکن است از سلول خاصی مانند سلول تخم و یا از سلول‌های سوماتیکی حاصل شود. اولی تحت عنوان جنین جنسی و دومی به عنوان جنین سوماتیکی یا غیرجنسی شناخته می‌شود. جنین دارای ساختار دوقطبی متشکل از ساختار پریموردیای ریشه و ساقه می‌باشد. به‌طور طبیعی جنین دارای ساختارهای لازم برای تولید یک ارگانیسم کامل از خیلی کوچک تا خیلی بزرگ مانند درخت غول یا سکویا می‌باشد. وجود این قابلیت بزرگ در جنین به آن جایگاه خاصی را می‌دهد. اگرچه تحت شرایط نرمال و مطلوب جنین‌های جوان بلوغ خود را به‌دست آورده و قابلیت‌شان را بروز می‌دهند اما در شرایط خاصی هم طی مراحل نمو اولیه ممکن است سقط گردند. در این موارد، جنین‌ها (یا سلول‌های پیش‌جنینی) می‌توانند جهت پرهیز از سقط شدن تحت شرایط مطلوب قرار گیرند (۲۲). تکنیک کشت درون شیشه‌ای ابزاری قدرتمند در عملیات نجات جنین در جنین‌های نارس و همچنین جنین‌های فاقد آندوسپرم است. موفقیت تولید گیاه از جنین‌های نارس به میزان زیادی وابسته به مرحله رشدی جنین و ترکیب محیط کشت است. با وجود اینکه مرحله رشدی جنین بسیار تعیین‌کننده است اما در مواردی هم مشاهده می‌گردد که جنین‌های بسیار نارس با استفاده از محیط کشت‌های ترکیبی با موفقیت نجات یافته‌اند. هدف از کشت جنین، شکستن خواب، آزمون زیوایی بذر، کاهش دوره اصلاحی و غیره می‌باشد، حال آن‌که نجات جنین به مواردی برمی‌گردد که در آن جنین بدون عملیات نجات و به تنهایی قادر به بقا و تولید نهال نمی‌باشد. این شرایط می‌تواند به دفعات در مواردی که جنین از نظر ژنتیکی ضعیف است و یا حاصل از تلاقی‌های دور باشد رخ دهد. در برخی موارد جنین‌های با احتمال سقط به‌وسیله کشت تخمک یا تخمدان نجات می‌یابند (۲۱). رشد جنین یک سیستم پویا است که نشانگر تغییر نیازهای آن طی مراحل رشد و نمو است. هر چه جنین کوچک‌تر باشد نیازمند محیط کشت پیچیده‌تری می‌باشد.

تکنیک‌های کشت جنین در زمینه اصلاح گیاهان و همچنین مطالعات پایه‌ای در فیزیولوژی و بیوشیمی کاربرد زیادی دارند. مشکلات زیادی پیرامون کشت درون شیشه‌ای خانواده گردو وجود دارد. درصد پایین جوانه‌زنی و چرخه طولانی ازدیاد بذری گردو و لزوم تیمار سرمادهی برای تسهیل جوانه‌زنی، مهم‌ترین موانع بر سر راه توسعه ارقام پرمحصول از طریق دورگ‌گیری است (۸). روش‌های باززایی گیاه از طریق کشت جنین در محیط درون شیشه‌ای باعث غلبه بر موانع هیبریداسیون، سقط جنین و غیره می‌گردد، به‌علاوه

سرعت پرآوری بیشتر و سریع‌تر از ژنوتیپ‌های برتر میسر می‌گردد. جنین‌ها به خاطر طبیعت نونهال خود دارای پتانسیل باززایی بیشتری بوده و بنابراین می‌توانند برای تکثیر درون شیشه‌ای به‌کار روند (۹). هدف از کشت جنین شکستن خواب، آزمون زیوایی بذر، کاهش دوره اصلاحی و غیره می‌باشد. در این پژوهش هدف دستیابی به پروتکل جوانه‌زنی درون شیشه‌ای جنین بالغ پکان و تعیین بهترین ترکیب هورمونی برای رشد بعدی گیاه حاصله بود. نتایج این پژوهش می‌تواند برای تسریع پروسه تولید پایه‌های بذری یکنواخت و مناسب برای عملیات پیوند مورد استفاده قرار گیرد. بیشترین پایه تجارتي مورد استفاده برای پیوند پکان، نهال‌های بذری خود پکان است. همچنین می‌توان از گیاهچه‌های حاصله برای تهیه ریزنمونه‌های سالم از قطعات نوساقه در کشت درون شیشه‌ای استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش جهت یکنواختی و پرهیز از اثرگذاری هر عامل دیگر غیر از تیمارهای در نظر گرفته شده در شرایط درون شیشه‌ای از میوه رسیده یک پایه درخت بالغ پکان برای کشت در همه تیمارها استفاده شد. میوه‌های رسیده حدود ۵ ماه بعد از گرده‌افشانی آزاد (Half-sib) جمع‌آوری شدند. میوه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و پوست‌کنی شدند. نیمی از آنها جهت تیمار سرمادهی به مدت ۱۵ روز در پاکت کاغذی بسته‌بندی شده و در یخچال در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بقیه میوه‌ها ابتدا با آب شهری شستشو شدند. سپس به مدت دو دقیقه در اتانل ۹۶ درصد غوطه‌ور و سپس با آب مقطر استریل دو بار شستشو شدند. سپس میوه‌ها در محلول هیپوکلریت سدیم (واتکس) با غلظت ۲/۸۳ درصد به مدت ۲۵ دقیقه غوطه‌ور شد و در نهایت ۳ تا ۵ بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. با گردوشکن، پوسته چوبی میوه با دقت زیاد و بدون آسیب رساندن به جنین جدا شد و جنین بالغ در شرایط استریل در محیط کشت مورد نظر کشت شد. محیط کشت پایه مورد استفاده برای کشت جنین‌ها، شامل محیط کشت موراشی و اسکوگ (MS) (۱۳) و محیط کشت درختان چوبی (WPM) (۱۲) بودند که با میزان ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۹ گرم در لیتر آگار و یک گرم در لیتر زغال فعال غنی شدند. تنظیم pH محیط کشت بر روی ۵/۷ تا ۵/۸ و با استفاده از محلول یک نرمال هیدروکسید سدیم و اسید هیدروکلریک صورت گرفت. سپس استریلیزاسیون در اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده شامل ایندول بوتیریک اسید (IBA) به میزان صفر و یک میلی‌گرم در لیتر، بنزیل آمینوپورین (BAP) به میزان صفر، یک و دو میلی‌گرم در لیتر و اسید جیبرلیک (GA₃) به میزان صفر و یک میلی‌گرم در لیتر بودند. جیبرلیک اسید به دلیل

گلخانه منتقل شدند. تیمارهای هورمونی مورد استفاده در جدول شماره یک آمده است. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در هر تکرار، دو جنین وجود داشت. شروع جوانه‌زنی از روز ششم پس از کشت ثبت شد. یادداشت‌برداری نهایی درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه و تعداد برگ در روز ۲۵ پس از کشت ثبت شد. داده‌های حاصله با نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین اختلاف آماری بین میانگین‌ها نیز از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ($p \leq 0.05$) استفاده شد.

حساسیت به گرما بعد از اتوکلاو و زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۴۰ درجه سانتی‌گراد رسید در شرایط استریل و با استفاده از فیلتر سرنگی (با قطر ۰/۲۲ میکرون) به محیط کشت‌ها اضافه شد. بعد از کشت، تمام محیط کشت‌ها در ژرمیناتور در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۲۸۰۰ لوکس با نور فلورسنت برای مدت ۴ هفته قرار گرفتند. تمام کشت‌ها برای یک هفته در تاریکی قرار داده شده و سپس در معرض نور مورد نظر قرار گرفتند. بعد از یک‌ماه، گیاهچه‌های قوی به خاک استریل با ترکیب پیت‌ماس: ماسه نرم: پرلیت با نسبت ۱:۱:۱ انتقال یافته و پس از طی مراحل سازگاری به

جدول ۱- تیمارهای هورمونی مورد استفاده برای هر یک از محیط کشت‌های MS و WPM

Table 1- PGRs treatments (mg l ⁻¹) in MS and WPM media							
تیمار Treatment	IBA	GA ₃	BAP	تیمار Treatment	IBA	GA ₃	BAP
T1	0	0	0	T7	1	0	0
T2	0	0	1	T8	1	0	1
T3	0	0	2	T9	1	0	2
T4	0	1	0	T10	1	1	0
T5	0	1	1	T11	1	1	1
T6	0	1	2	T12	1	1	2

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مرتبط با جوانه‌زنی جنین بالغ پکان در شرایط درون شیشه‌ای

Table 2- ANOVA (mean squares) of pecan mature embryo germination traits <i>in vitro</i>						
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی dF.	طول دوره جوانه‌زنی Germination period	میزان جوانه‌زنی Germination percentage	طول ساقه اصلی Main shoot length	تعداد برگ Leave no.	طول ریشه اصلی Main root length
تکرار Replication	2	5.15 ^{ns}	1126.85**	655.69**	1.75 ^{ns}	448.63 ^{ns}
پیش سرمادهی Cold pretreatment	1	1.77 ^{ns}	9462.91**	836.17*	9.50 ^{ns}	3277.56**
محیط کشت Media	1	96.69 ^{ns}	30645.12**	4522.56**	2584**	7817.50**
تنظیم کننده رشد PGRs	11	76.69*	4818.44**	394.68**	2.05*	589.96*
محیط کشت × تنظیم کننده رشد Media × PGRs	11	141.54**	7377.29**	194.80 ^{ns}	4.32**	777.76**
محیط کشت × پیش سرمادهی Media × Cold pretreatment	1	40.11 ^{ns}	68.59 ^{ns}	41.17 ^{ns}	0.17 ^{ns}	423.67 ^{ns}
پیش سرمادهی × تنظیم کننده رشد Cold pretreatment × PGRs	11	33.59 ^{ns}	2935.92**	446.11**	2.02*	543.09*
پیش سرمادهی × محیط کشت Cold pretreatment × Media × PGRs	11	52.41 ^{ns}	3085.35**	359.62**	1.74*	252.99 ^{ns}
اشتباه آزمایشی Error	94	33.15	312.93	128.81	0.90	245.11

^{ns}, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

^{ns}, *, ** non-significant, significant at 5 and 1% of probability level, respectively

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع محیط کشت، تیمار سرمادهی و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی توانستند بر روی دوره جوانه‌زنی، میزان جوانه‌زنی و رشد ساقه، رشد ریشه و تعداد برگ اثر معنی‌داری بگذارند (جدول ۲).

بر اساس نتایج، تیمار پیش‌سرمادهی بذور به مدت ۱۵ روز در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بر روی درصد جوانه‌زنی و طول ساقه اثر معنی‌داری نشان داد ولی اثر متقابل این تیمار و محیط کشت اثر معنی‌داری بر روی هیچ یک از صفات نداشت (جدول ۳). در تحقیقات سایر محققان نیز پیرامون اثر پیش‌سرمادهی نتایج مختلفی وجود دارد. برخی محققان گزارش نمودند که جوانه‌زنی جنین‌ها بدون تیمار سرمایی یا بدون کاربرد هورمون GA_3 با کارایی پایینی انجام می‌شود. تیمار سرمایی یا GA_3 ، سطح هورمون ABA را کاهش می‌دهد و در نتیجه جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. پیش‌سرمادهی و در ادامه قرار دادن جنین‌ها در برابر نور، جوانه‌زنی و رشد شاخه‌ها را افزایش داده است. این فرایند ممکن است در نتیجه شکستن خواب جنین در تیمار سرمایی و در ادامه جذب نور قرمز و نهایتاً افزایش مقدار نسخه برداری ژن‌های تولید کننده GA_3 باشد (۴، ۱۷ و ۲۳).

در حالی که تانگ و همکاران (۲۳)، گزارش نمودند که جوانه‌زنی جنین‌های سوماتیکی گردو در تیمار سرمادهی ضعیف بوده است. دنگ و کورنو (۳) و لی و همکاران (۱۰) هم گزارش مشابهی در گردو ارائه نمودند. آنها نشان دادند که جوانه‌زنی جنین‌های سوماتیکی گردو در تیمار سرمادهی به همراه GA_3 پایین بوده است. این با نتایج تحقیق حاضر مشابه می‌باشد. این با نتایج تحقیق حاضر مشابه می‌باشد. اما تولک و مک‌گراناهان (۲۷) جوانه‌زنی مناسبی در جنین‌های سوماتیکی گردو که با سرما تیمار شده بودند به‌دست آورده و تولید گیاهچه نمودند. همچنین پیغام‌زاده و کاظمی‌تبار (۱۶) نشان دادند که کاربرد تیمار سرمایی و هورمون GA_3 به‌طور همزمان می‌تواند باعث افزایش میزان جوانه‌زنی در جنین نابالغ پکان گردد.

در پژوهش حاضر نوع محیط کشت بر روی آغاز جوانه‌زنی اثر معنی‌داری نداشت و کم‌ترین تعداد روز برای جوانه‌زنی ۶ روز ثبت شد. ولی نوع محیط کشت توانست درصد جوانه‌زنی و فاکتورهای رشدی گیاهچه را تحت تاثیر قرار دهد. بر این اساس بیشترین درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه و تعداد برگ در محیط کشت MS در هر دو تیمار (سرمادهی و بدون سرما) بود. پیغام‌زاده و همکاران (۱۵) در آزمایشی به بررسی اثرات نوع محیط کشت، غلظت GA_3 و تیمارهای فیزیکی بر روی جوانه‌زنی جنین بالغ گردوی ایرانی پرداختند. آنها بیان نمودند که درصد جوانه‌زنی جنین‌ها هنگامی که تیمار سرمایی و اسید جیبرلیک به‌طور همزمان به کار برده شوند در

مقایسه با هنگامی که آنها به‌طور جداگانه به کار می‌روند بیشتر است. چنانچه در نتایج آمده است رشد ساقه در محیط کشت MS بیشتر از WPM بود. هیل سادهورت و همکاران (۷) در گردو گزارش کردند که رشد شاخه‌های جانبی به‌طور معنی‌داری در محیط کشت DKW بیشتر از محیط کشت WPM و ریز شاخه‌هایی که در محیط کشت DKW رشد کردند نسبت به محیط کشت WPM ضخیم‌تر بوده و برگ‌های توسعه‌یافته و سبزتری داشتند.

همچنین در آزمایش حاضر بر روی پکان، طول ریشه‌ها در محیط کشت MS بیشتر از WPM بود. این نتایج مشابه نتایج در گردو است. مایلی و همکاران (۱۱) گزارش کردند که در حدود ۲۶ درصد از اسید آمینه‌های آزاد در گیاهچه‌های یک‌ساله گردو در ریشه اصلی وجود دارد. همچنین آمینو اسیدهای آزاد ریشه اصلی مشابه آمینو اسیدهای آزاد محور جنینی است. آنها گزارش کردند که سیترولین نقش مهمی در انتقال آمینو اسیدهای آزاد و همچنین انتقال مجدد نیتروژن ذخیره شده در هنگام جوانه‌زنی گردو ایفا می‌کند. این آمینو اسید غیرپروتئینی در مدت جوانه‌زنی از ارنی تین سنتز می‌گردد. مقادیر زیاد ویتامین‌های موجود در محیط کشت MS ممکن است از طریق شرکت در واکنش‌های دکربوکسیلاسیون اسیدهای آلفا ستونی، ترانس‌آمیناسیون، واکنش‌های اکسیداسیون و احیا و غیره در چرخه‌های مختلف زیستی باعث افزایش سنتز سیترولین و اسید آمینه‌های آزاد در ریشه اصلی گیاهچه‌های گردو شده و در نتیجه باعث افزایش رشد ریشه‌ها می‌گردد.

نتایج نشان داد که تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، تاثیر معنی‌داری بر روی دوره و میزان جوانه‌زنی، طول ریشه، طول ساقه و تعداد برگ داشتند (شکل ۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی در هر دو تیمار سرمادهی و بدون سرمادهی در تیمارهای T11 (یک میلی‌گرم در لیتر IBA، یک میلی‌گرم در لیتر GA_3 و یک میلی‌گرم در لیتر BAP) و T12 (یک میلی‌گرم در لیتر IBA، یک میلی‌گرم در لیتر GA_3 و دو میلی‌گرم در لیتر BAP) بود. لذا در این آزمایشات، بین غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و دو میلی‌گرم در لیتر BAP تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از طرف دیگر، در تیمار بدون سرمادهی تیمار T12 (یک میلی‌گرم در لیتر IBA، یک میلی‌گرم در لیتر GA_3 و دو میلی‌گرم در لیتر BAP) دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها بود. هو و همکاران (۶) بر روی کشت درون شیشه‌ای جنین نابالغ هیکوری (*Carya cathayensis*) که یک گونه زینتی از جنس کاریا می‌باشد تحقیق نمودند. بیشترین جوانه‌زنی و رشد در محیط کشت MS با میزان دو میلی‌گرم در لیتر BA و یک میلی‌گرم در لیتر GA_3 حاصل شد. در آزمایشی برای کشت جنین نابالغ پکان از محیط کشت DKW استفاده شد و بهترین رشد جنین در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۰۵

رشد ساقه و پرآوری را در محیط کشت MS و با غلظت ۱۵ میکرومول BAP به دست آوردند. در تحقیق کائور و همکاران (۹) در ریزازدیادی گردو از طریق کشت درون شیشه‌ای جنین بالغ محیط کشت MS با غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر کینتین، ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP و دو میلی گرم در لیتر GA₃ بهترین جوانه‌زنی را نشان داد. سانچز زامورا و همکاران (۲۱) در تحقیق خود در گردو نشان دادند بهترین محیط کشت WPM و بهترین محیط کشت پرآوری محتوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP بود.

میلی گرم در لیتر IBA و دو میلی گرم در لیتر GA₃ به دست آمد (۱۶). رنوکداز و همکاران (۱۸ و ۱۹) توانستند گیاهچه‌های پکان (*Carya illinoensis*) حاصل از کشت جنین بالغ را با کارایی بالایی در محیط کشت MS به دست آورند. بهترین تیمار در این آزمایش شامل ۱۸ میکرومول BAP و ۵ میکرومول IBA بود. در تحقیق طوسی و همکاران (۲۶) در پرآوری جنین بالغ گردو بهترین محیط کشت NGE بود و بهترین تیمار شامل ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP به دست آمد. هارون و آفتاب (۵) در آزمایش خود بر روی کشت لپه پکان، بیشترین

جدول ۳- مقایسه میانگین تاثیر پیش تیمار سرمایی، محیط کشت و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر صفات جوانه‌زنی جنین پکان در شرایط درون شیشه‌ای

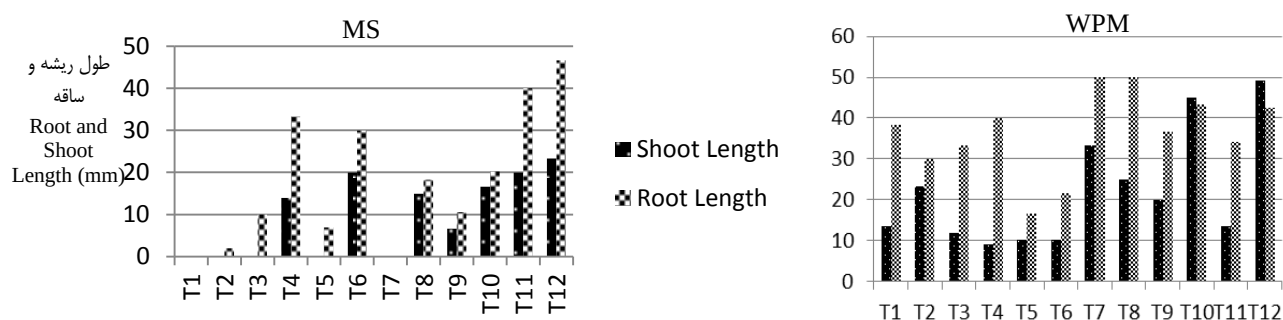
Table 3- Mean comparison of the effect of cold pretreatment, medium and PGRs on *in vitro* embryo germination characters of pecan

پیش تیمار سرمادهی Cold pretreatment	محیط کشت Medium	تیمار هورمونی PGRs treatment	دوره جوانه‌زنی Germination period (day)	درصد جوانه‌زنی Germination percentage (%)	طول ساقه Shoot length (mm)	تعداد برگ Leave no.	طول ریشه اصلی Main root length (mm)
عدم پیش سرمادهی Without cold pretreatment	MS	T1	12b	100a	13.33d	1.33d	38.33a
		T2	10.66b	100a	23.33c	2.33b	30b
		T3	8c	100a	11.66e	1.66c	33.33b
		T4	6c	44.44b	9e	1.33d	40a
		T5	2d	11.11c	10e	0.66d	16.66
		T6	9.33bc	100a	10e	1d	21.66c
		T7	10.66b	100a	33.33b	3.66a	50a
		T8	10.33b	100a	25c	1.66c	50a
		T9	10.33b	100a	20d	2.33b	36.66b
		T10	6.66c	100a	45a	2.66b	43.33a
		T11	10bc	100a	13.33d	1.66c	34b
		T12	8c	100a	49a	2.66b	42.33a
با پیش سرمادهی With cold pretreatment	MS	T1	13.66b	100a	23.33c	2.33b	16.66c
		T2	12.66b	100a	11.66e	1d	43.33a
		T3	19.66a	100a	13.33d	1.33d	24c
		T4	5.33d	44.44b	30bc	1.66c	6.66d
		T5	8.66c	100a	30bc	2.33b	26.66b
		T6	2.66d	11.11c	20d	0.66d	6.66d
		T7	10.66b	44.44b	6.66de	0.66d	16.66c
		T8	15.66a	100a	10.66e	1d	38.33a
		T9	12b	100a	11.66e	2.66b	46.66a
		T10	0e	0c	0e	0e	0d
		T11	10bc	100a	25c	1.66c	35b
		T12	8.33c	44.44b	10e	0.66d	20c
بدون پیش سرمادهی Without cold pretreatment	WPM	T1	0e	0c	0f	0e	0d
		T2	12b	44.44b	0f	0e	2d
		T3	6c	11.11c	0f	0e	10d
		T4	8c	100a	14d	1.66c	33.33b
		T5	14b	44.44b	0f	0e	7d
		T6	12b	100a	20d	2c	30b
		T7	0e	0c	0f	0e	0d
		T8	5.33d	44.44b	15d	1.66c	18.33c
		T9	10.66b	44.44b	6.66de	0e	10.66d
		T10	10.33b	100a	16.66d	1.33d	20.33c
		T11	10.66b	100a	20d	2.66b	40a
		T12	7.33c	100a	23.33c	2.66b	46.66a
با پیش سرمادهی With cold pretreatment	WPM	T1	0e	0c	0f	0e	0d
		T2	7.33c	11b	0f	0e	3.33d
		T3	0e	0c	0f	0e	0d
		T4	0e	0c	0f	0e	0d
		T5	6.33c	11c	0f	0e	10d
		T6	17a	100a	15.33d	2c	26.66b
		T7	0e	0c	0f	0e	0d
		T8	12.66b	44.44b	0f	0e	12.66d
		T9	18a	100a	0f	0e	22.33c
		T10	6c	44.44b	8.66e	1d	23.33c
		T11	9.66c	100a	28.33c	2.33b	30b
		T12	10bc	100a	18.33d	1.33d	16.66c
LSD			4.7	14.44	9.26	0.77	12.78

پکان و بندهای جنینی به دست آوردند. بندهای جنینی در محل گره‌های لپه‌ها تشکیل ۸۵ درصد ریزشاخه نمودند و ۳۰ درصد آنها در محیط کشت عاری از اکسین بعد از پیش تیمار با ۲۰ میکرومول ایندول بوتیریک اسید (IBA) تولید ریشه نمودند. جوانه‌های نابجا بر روی سطح کالوس ظاهر شدند. این کالوس در محیط کشت محتوی TDZ (۲۵ میکرومول) و بر روی گره‌های لپه و ریشه‌چه تولید شده بود. در تحقیق حاضر، گیاهچه‌های حاصله در همه محیط کشت‌ها دارای ریشه قوی‌تری نسبت به ساقه بودند. نتایج مشابه در تحقیق کائور و همکاران (۹) در کشت جنین بالغ گردو نیز به دست آمد (شکل ۲).

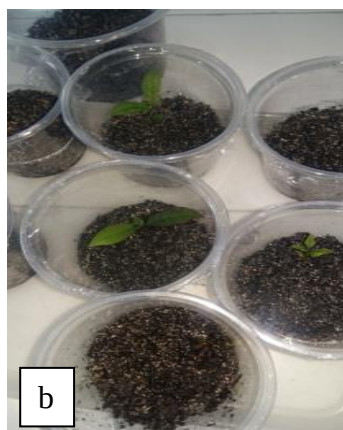
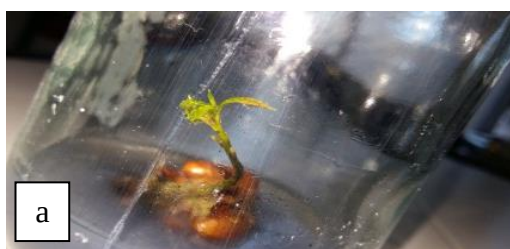
سادات و هنرتی (۲۰) فاکتورهای موثر بر پرآوری را در گردو بررسی نمودند و به مقایسه محیط کشت‌های مختلف، تنظیم کننده‌های رشد و فاکتورهای سفت کننده محیط پرداختند. جمع‌بندی آنها حاکی از آن بود که بهترین محیط کشت برای جوانه‌زنی جنین بالغ گردو، محیط کشت DKW با میزان ۲/۲ گرم در لیتر فیتاژل بود که با یک میلی گرم در لیتر IBA غنی شده بود.

مشاهده تمام این منابع حاکی از آن است که تعیین شرایط درون شیشه‌ای مناسب رشد برای هر نوع گونه گیاهی ضروری است و بایستی بهترین محیط کشت در جوانه‌زنی درون شیشه‌ای و بهترین غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای پرآوری مورد آزمون و سنجش قرار گیرد. عبیدی و اسمیت (۱۴) ارگانوژن را از لپه‌های بالغ



شکل ۲- طول ریشه و ساقه گیاهچه‌های حاصل از کشت جنین پکان در محیط کشت‌های MS و WPM

Figure 2- Root and shoot length of peacan embryo seedlings in MS and WPM media



شکل ۳- مراحل مختلف کشت جنین رسیده پکان (a)، انتقال به خاک (b) و سازگاری در گلخانه (c)

Figure 3- Mature peacan embryo culture (a), soil transfer (b) and greenhouse acclimation (c)

نتیجه‌گیری

پکان مانند گردو یکی از گیاهان سخت بارزا^۱ در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد. بنابراین شناخت محیط کشت مناسب برای جوانه‌زنی و سپس پرآوری آن در شرایط درون شیشه‌ای ضرورت دارد. نتایج تحقیق حاضر می‌تواند برای تولید نهال پکان از طریق کاشت جنین بالغ در شرایط درون شیشه‌ای به کار گرفته شود. نهال‌های کشت بافتی حاصله می‌تواند ماده اولیه برای مطالعات دیگر در

زمینه‌های فیزیولوژی، بیماری‌شناسی، بیوتکنولوژی، تولید پایه بذری برای پیوند و جنین‌زایی سوماتیکی باشد. در این تحقیق بهترین محیط کشت برای جوانه‌زنی جنین بالغ پکان محیط کشت MS بود. همچنین بهترین تیمار برای جوانه‌زنی جنین بالغ پکان شامل یک میلی گرم در لیتر IBA، یک میلی گرم در لیتر GA₃ و دو میلی گرم در لیتر BAP بود.

منابع

- 1- Ajamgard F., Rahemi M., and Vahdati K. 2017. Detremining the pollinizer for Pecan cultivars. Journal of Nuts 8(1): 41-48.
- 2- Ajamgard F., Rahemi M., and Hassani D. 2013. Introduce pecan [*Carya illinoensis* (Wagenh.) K. Koch] for Khuzestan province. Detection in Agronomical and Horticultural Plants 2(2): 129-142. (In Persian)
- 3- Deng M.D., and Cornu D. 1992. Maturation and germination of walnut somatic embryos. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 28: 195-202.
- 4- Finkelstein R., Wendy R., Tohru A., and Camille S. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. Annual Review of Plant Biology 59: 387-415.
- 5- Haroon A., and Aftab F. 2008. Adventitious regeneration of pecan using immature cotyledonary explant. Genomics, Proteomics, Metabolics: Recent trends in Biotechnology 352-354.
- 6- Hu H., Zhang Q., Jiang X., Huang J., Han K., Shen Y., Lv F., and Huang F. 2011. Efficient immature embryo germination in vitro of hickory (*Carya cathayensis* Sarg.). Propagation of Ornamental Plants 11(2): 96-101.
- 7- Heile-Sudholt C., Huetteman C.A., Preece J.E., Van Sambeek J.W., and Gaffney G.R. 1986. In vitro embryonic axis and seedling shoot tip culture of *Juglans nigra* L. Plant cell, Tissue and Organ Culture 6: 189-197.
- 8- Jafari Mofidabadi A. 2014. Application of Embryo Rescue Technique in *Juglans regia* L. x *J. nigra* L. Hybridization. Journal of Medicinal Plants and By-products 2: 211-214.
- 9- Kaur R., Sharma N., Kumar K., Sharma D.R. and Sharma S.D. 2006. In vitro germination of walnut (*Juglans regia* L.) embryos. Scientia Horticulturae 109: 385-388.
- 10- Lee B.C., Shim S.Y., and Lee S.K. 1988. Mass propagation of somatic embryos in *Juglans regia* L. (English walnut). Research Report of the Institute of Forest Genetics, Korea 24: 99-106.
- 11- Mapelli S., Bram Billa I., and Bertani A. 2001. Free amino acids in walnut kernels and young seedlings. Tree Physiology 21: 1299-1302.
- 12- McCown B.H., and Lloyd G. 1981. Woody Plant medium (WPM)-a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species. Hortscience 16: 453.
- 13- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
- 14- Obeidy A., and Smith M.A.L. 1993. Organogenesis and somatic embryogenesis from mature pecan embryonic axes. Horticulture Science 28: 213-215.
- 15- Payghamzadeh K., Kazemitabar S.K., and Amiri A. 2011. Effects of Two Type of Medium Cultures, Gibberellic Acid and Some Physical Factors on Persian Walnut (*Juglans regia* L.) Embryos Germination. Journal of Horticulture Science 25 (1): 45-54.
- 16- Payghamzadeh K., and Kazemitabar S.K. 2010. In vitro germination of Pecan (*Carya illinoensis*) embryo. Biharean Biologist 4(1): 37-43.
- 17- Rajasekaran K., Vine J., and Mullins M.G. 1982. Dormancy in somatic embryos and seeds of *Vitis*: changes in endogenous abscisic acid during embryogeny and germination. Planta 154: 139-144.
- 18- Renukdas N.N., Manoharan M., and Garner J.O. 2010. In vitro propagation of pecan [*Carya illinoensis* (Wagenh.) K. Koch]. Plant Biotechnology 27: 211-215.
- 19- Renukdas N.N., Manoharan M., and Garner J.O. 2008. In vitro plant regeneration of pecan [*Carya illinoensis* (Wagenh.) K. Koch]. In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant 44: 342-363.
- 20- Saadata Y.A., and Hennerty M.J. 2002. Factors affecting the shoot multiplication of Persian walnut (*Juglans regia*

- L.). *Scientia Horticulturae* 95: 251–260.
- 21- Sanchez-Zamora M.A., Diego Frutos Tomas J.C.T., and Garcia-Lopez R. 2006. Embryo germination and proliferation in vitro of *Juglans regia* L. *Scientia Horticulturae* 108(3): 317-321.
- 22- Sharma D.R., Kaur R., and Kumar K.1996. Embryo rescue in plants, a review. *Euphytica* 89: 325-337.
- 23- Sun T.P., and Frank G. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology* 55: 197-223.
- 24- Tang H., Zhenglong R., and Gabi K. 2000. Improvement of English walnut somatic embryo germination and conversion by desiccation treatments and plantlet development by lower medium salt. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 36: 47-50.
- 25- Thompson, Tommy E. and Conner, Patrick J.2012. "Chapter 20: Pecan". Publications from USDA-ARS / UNL Faculty. 1322p.
- 26- Toosi S., Dilmaghani K., and Hikmatshoar H. 2010. Proliferation of *Juglans regia* L. by in vitro embryo culture. *Middle-East Journal of Scientific Research* 6 (1): 1-7.
- 27- Tulecke W., and McGranahan G.H. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledons of walnut, *Juglans regia* L. *Plant Science* 40: 57–63.



In Vitro Mature Embryo Germination of Pecan (*Carya illinoensis*)

M. Ghazaeian¹- Gh.H. Davarynejad^{2*}- K. Ghasemi Bezdi³- H. Nemati⁴

Received: 23-05-2018

Accepted: 03-07-2019

Introduction: The walnut family (Juglandaceae) consists of approximately 60 species of deciduous trees is native of the American continents, Europe, and Asia. Pecan (*Carya illinoensis*) is belonged to the Juglandaceae family and is one of the most valuable nut products all over the world. Embryo culture techniques for plant breeding as well as basic studies in physiology and biochemistry are widely used. The low percentage of germination and the long propagation cycle and the need for stratification treatments from three to six months are the most important barriers to the development of high yielding cultivars through hybridization. Plant regeneration methods from embryo culture *in vitro* allows overcoming the barriers of hybridization, as well as obtaining higher and faster multiplication rate of plants of an elite genotype.

Materials and Methods: In this experiment, an adapted native genotype of pecan in Gorgan city, Golestan province, Iran was selected. The mature fruits were harvested after five months of pollination. They were immediately transferred to the laboratory. For cold pretreatment, nuts packed in a paper bag and stored in 4-5°C for 15 days. The effect of two types of culture medium, growth regulators and seed pretreatment (15 days at 4-5 °C) on germination of mature embryos of pecan has been determined. Murashige and Skoog (MS) and Woody Plant Medium (WPM) and IBA (0 and 1 mg/l-1), BAP (0, 1 and 2 mg/l-1) and GA₃ (0 and 1 mg/l-1) media were used to embryo rescue evaluation. The data obtained were statistically analyzed in completely randomized block design (RCBD). Each treatment was replicated at least third, and each replicate consisted of two zygotic embryos. Means of germination period, percent of seed germination, root and shoot length and leaf number in different media and various PGRs combination were compared based on LSD at $p \leq 0.05$.

Results and Discussion: The results showed, although cold pretreatment for 15 days had no effect on germination period, root length and number of leave but also, effect on germination percentage and shoot length. There are some different hypothesis about the effect of cold pretreatment on embryo germination between researchers. Some researchers believed that, there is low efficiency in embryo germination in lack of cold pretreatment and GA₃. Cold pretreatment or GA₃ reduce the ABA level and promote embryos germination. The others reported poor germination for somatic embryos when they treated with GA₃ and cold pretreatments. Pearce *et al.* (1987) reported that GA₃ and substrate of GA₃ can be increased during the chilling process as ABA levels decrease. Furthermore, application of exogenous GA₃ induces germination. Tang *et al.* (2000) reported that somatic embryos germination poorly happened in cold condition and addition of GA₃ did not change the poor germination. Kaur *et al.* (2006) and Peyghamzadeh and Kazemitabar (2010), reported that the embryo germination in *Juglans regia* L. was higher when GA₃ and cold pretreatments were simultaneously applied as compared to those when applied separately. In this experiment, media has no effect on embryo germination period but, could effect on other parameters. As the results showed, MS media showed the maximum percentage of germination, root and shoot length and number of leave in both condition (with and without cold pretreatment). In this experiment root length of germinated pecan embryo was higher in MS medium. Mapelli *et al.* (2001) reported that seed germination resulted in marked changes in the metabolism of free amino acids in walnut cotyledons. About 52% of the total free amino acids in one-month-old seedlings was present in the cotyledons and about 26% was in the taproot. The concentration of free amino acids in the taproot was similar to that in the embryonic axis, and greater than that in the cotyledons. T11 (1mg/l⁻¹ IBA, 1mg/l⁻¹BAP and 1mg/l⁻¹ GA₃) and T12 (1mg/l⁻¹ IBA, 2mg/l⁻¹BAP and 1mg/l⁻¹ GA₃) treatments were the highest in germination percentages in both treatment (with and without cold pretreatment). There was no significant differences between 1 mg/l⁻¹ and 2 mg/l⁻¹ of BAP.

Conclusion: Pecan as like walnut, is considered to be one of the most recalcitrant species *in vitro*. It is necessary to determine the optimal culture conditions to establish it for shortening time in seed propagation. This

1, 2 and 4- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Ira, respectively.

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

3- Assistant Professor, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Cotton Research Institute, Gorgan, Iran

seedling could be applied as primary material for breeding programs, grafting and physiology study. The best growth of micro plant achieved in MS medium with 1 mg l⁻¹IBA, 1 mg l⁻¹GA3 and 2 mg l⁻¹BAP.

Keywords: Embryo, *In vitro* micropropagation, Juglandaceae, Propagation



مقاله علمی-پژوهشی

اثر روش‌های مختلف پیوند بر رشد رویشی و عملکرد میوه گوجه‌فرنگی رقم "اسوی ۸۳۲۰"

حمديه عینی گرسدفی^۱ - بهمن زاهدی^{۲*} - فاطمه مرادی پور^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۴

چکیده

گوجه‌فرنگی یکی از محصولات مهم گلخانه‌ای است. امروزه با بکارگیری روش‌های پیوند به منظور ایجاد سبزی‌های میوه‌ای متحمل در برابر شرایط نامساعد محیطی و افزایش رشد، عملکرد و کیفیت میوه تکنیک نوینی را برای تولید سبزی‌های میوه‌ای به وجود آورده است. در این راستا به منظور ارزیابی اثر نوع پیوند بر رشد رویشی و عملکرد بوته گوجه فرنگی رقم "اسوی ۸۳۲۰" روی توده‌ی "Rimac" با سه روش پیوند مرسوم شامل نیمانی، اسکنه و مجاورتی مورد آزمایش قرار گرفت. گیرایی پیوند بین روش‌ها مختلف متفاوت بود و روش نیمانی نسبت به روش‌های اسکنه و مجاورتی برتر بود. اثر پیوند در طول بوته، تعداد و طول میانگره، وزن تر و خشک ریشه، تعداد خوشه‌های میوه، طول و قطر میوه، وزن تک میوه، وزن تر و خشک میوه، طول دم میوه، سفتی بافت میوه، pH، عملکرد پیش‌رس، میان دوره و کل، نسبت میوه بازار پسند به درجه دو باعث ایجاد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد گردید. گیاهان پیوندی در صفات رویشی و عملکرد بر گیاهان غیر پیوندی برتری داشتند.

واژه‌های کلیدی: افزایش رشد، پیوند نیمانی، پیوند مجاورتی، پیوند اسکنه، پیوندک

کردند (۳۴).

مقدمه

هدف اصلی پیوند در سبزی‌ها مبارزه با عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد به ویژه فوزاریوم است ولی با گذشت زمان اهداف جدیدتری مانند افزایش مقاومت در برابر تنش‌هایی چون دمای پایین، شوری و رطوبت بالای خاک، افزایش جذب آب، عناصر غذایی و قدرت رشد گیاه و در نهایت طولانی کردن دوره برداشت اقتصادی میوه باعث گردیده تا امروزه تولید کنندگان سبزی‌ها در کشورهای مختلف به این تکنیک روی آورند (۱۸).

مهمترین اهداف اصلاحی در گوجه فرنگی مقاومت به امراض، دستیابی به ارقامی با عملکرد بالا، زودرسی میوه و بهبود صفات کیفی نظیر مواد جامد محلول (TSS) و اسیدیته می‌باشد. هدف مشترک اصلاح گوجه فرنگی در برنامه‌های مختلف به‌نژادی زودرسی و افزایش محصول است. در مورد عملکرد، کیفیت و مقاومت گوجه فرنگی اعتبار و امکان ایجاد این تغییرات به تنوع مواد ژنتیکی موجود به‌ویژه گونه‌های وحشی و بومی مربوط می‌شود که بطور گسترده‌ای برای ایجاد واریته‌های جدید و حل مشکلات مربوط به تولید این گیاه استفاده می‌شوند (۱۰).

یکی از مهمترین تیره‌های گیاهی که تحقیقات زیادی در اصلاح آن‌ها انجام گرفته تیره‌ی بادنجان سانان^۴ می‌باشد. گوجه فرنگی با نام علمی (*Solanum lycopersicum*) یکی از مهم‌ترین سبزی‌های میوه‌ای این تیره می‌باشد. با افزایش جمعیت دنیا و تلاش برای بهبود کیفیت غذا، مصرف سبزیجاتی از قبیل گوجه فرنگی به عنوان بخشی از غذای انسان در حال افزایش است که بدلیل ارزش غذایی و مصرف بالا جایگاه دوم جهانی را بعد از سیب‌زمینی از نظر میزان تولید به خود اختصاص داده است (۶).

تکنیک پیوند یکی از روش‌هایی است که امروزه در سطح وسیع و به صورت تجاری در کشت و پرورش سبزی‌ها در کشورهای صنعتی و توسعه یافته بکار می‌رود. بنیانگذار پیوند سبزی‌ها، کشور ژاپن بوده که محققان با پیوند هندوانه بر روی کدو آن را وارد مباحث تحقیقاتی

۱، ۲ و ۳- به ترتیب کارشناسی ارشد اصلاح گیاهان باغی، استادیار و دکتری مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
(*)- نویسنده مسئول
(Email: Zahedi.b@lu.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.76358

4- Solanaceae

استفاده از پایه‌های مقاوم یکی از برنامه‌های موفقیت‌آمیز محسوب شده که می‌توان با انتخاب پایه مناسب بر مشکلات غلبه نمود و در جهت افزایش عملکرد محصولات گلخانه‌ای گام برداشت. اولین گام در اصلاح یک گیاه استفاده مؤثر و بهینه از جمعیت‌های بومی است. در این راستا باید نسبت به شناخت ویژگی‌های توده‌های بومی از طریق ارزیابی آن‌ها اقدام نمود. این موضوع که ارقام بومی از پایداری عملکرد بهتری برخوردار می‌باشند و در شرایط نامساعد محیطی آسیب پذیری کمتری نسبت به ارقام جدید دارند، قابل توجه است. در حال حاضر بارزترین ارزش توده‌های بومی به لحاظ ژن‌های مفید از جمله ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها و آفات، کیفیت مواد غذایی و سازگاری به شرایط نامساعد طبیعی است که تاکنون ناشناخته مانده اند و در آینده می‌توانند بسیار ارزشمند باشند، مربوط می‌شود (۱).

با وجود کاربرد گسترده‌ی تکنیک پیوند در پرورش سبزی‌ها در سایر نقاط جهان مخصوصاً کشورهای شرق آسیا و استفاده از مزایای بیشمار این روش، کارهای تحقیقاتی در این زمینه در ایران بسیار نپا می‌باشد.

مهماد و همکاران (۲۸) بمنظور تعیین اثر سه روش پیوند زبانه ای^۱ (TAG)، حفره‌ای^۲ (HIG) و پیوند جانبی^۳ (SIG) بر رشد و عملکرد میوه هندوانه (*Citrullus lanatus*) 'Aswan F1'، 'Nun 6001 F1' و 'Tetsukabuto'، 'Strongtosa F1' پایه که دورگه‌های بین کدوتبیل و کدوی حلواپی بودند پیوند زدند. پیوند اسکنه بطور قابل توجهی در طول ساقه اصلی، تعداد ساقه‌های جانبی، تعداد گل نر در هر بوته، عملکرد میوه در بوته و وزن میوه بیشتر در مقایسه با دیگر روش‌های پیوند (حفره‌ای و زبانه‌ای) داشت. در میان سه روش پیوند آزمایش شده روش زبانه‌ای می‌تواند بهترین روش پیوند در هندوانه باشد.

حیدری زفره و همکاران (۹)، اثر پنج پایه کدوی هیبرید *Cucurbita maxima* × *Cucurbita moschata* و دو روش پیوند نیمانی و حفره‌ای در پیوند خیار گلخانه‌ای رقم "خسیب" بر زنده‌مانی، صفات رویشی، عملکرد و صفات کیفی میوه را بررسی کردند. گبرایی پیوند بین روش‌های مختلف متفاوت بود و روش حفره‌ای نسبت به روش نیمانی برتر بود. اثر نوع پایه هم بر گبرایی مؤثر بود، گیاهان پیوندی در صفات رویشی بر گیاهان غیرپیوندی برتری داشتند.

تورهان و همکاران (۳۶)، با هدف بررسی اثرات پیوند بر گوجه فرنگی با استفاده از روش پیوند اسکنه آزمایشی انجام دادند، نتایج نشان داد پیوند می‌تواند اثرات مفیدی در تولید گوجه فرنگی داشته

باشد. ارقام Talya, Swanson, Beril بعنوان پیوندک و ارقام مورد استفاده برای پایه Beaufort, Arnold بودند. عملکرد میوه، شاخص میوه، تعداد میوه‌ها، وزن متوسط میوه پیوندی و مقدار اسید قابل تیتراسیون بهبود یافت. کیفیت میوه اندازه‌گیری شده از نظر مقدار ماده خشک، غلظت مواد جامد محلول، قند کل، و ویتامین C، در میوه گیاهان پیوندی کمتر از غیر پیوندی بود.

کاسجان مارسیک و همکاران (۱۴) اثر دو روش پیوند بر موفقیت در گبرایی پیوند و عملکرد دو رقم گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) را مورد بررسی قرار دادند. درصد بالای گبرایی پیوند (۷۹-۱۰۰ درصد) در هر دو گوجه پایه و پیوندک با استفاده از روش اسکنه و لوله‌ای مشاهده شده نشان داد هر دو روش اسکنه و لوله‌ای در پیوند گوجه فرنگی مناسب هستند.

معایب پیوند در سبزی‌ها، شامل نیاز به نیروی کار ماهر برای انجام عمل پیوند و بعد از پیوند، داشتن اطلاعات کافی برای انتخاب پایه، مدیریت مزرعه در کاربرد کودهای مورد نیاز، عدم سازگاری پایه و پیوندک، رشد رویشی بیش از حد گیاه پیوندی و ناهنجاری‌های فیزیولوژیک، کاهش کیفیت میوه، هزینه تهیه بذرهای پایه و ریشه دار شدن پیوندک می‌باشد (۲۰).

برای پیوند گیاهان علفی مانند سبزی‌ها، با توجه به نوع گیاه، اندازه بوته، اهداف پیوند، امکانات موجود، ترجیح و تجربه تولید کننده نشاء پیوندی و شرایط مدیریتی پس از پیوند، روش‌های پیوند متفاوتی معرفی شده اند که برای گونه‌های مختلف و گونه‌های مشابه روش به کار رفته کاملاً متفاوت می‌باشد (۱۵).

هر یک از روش‌ها دارای مزایا و معایب ویژه خود هستند که روی زنده ماندن و نمو بوته‌های پیوندی مؤثر می‌باشند. از این رو انتخاب روش پیوند مناسب نیز از مباحث بحرانی در زمینه پیوند سبزی‌ها است؛ با این وجود، نقطه اشتراک همه‌ی این روش‌ها، نیاز به مراقبت‌های ویژه پس از انجام عمل پیوند است (۲۱).

با توجه به مزایایی که برای گیاهان پیوندی بیان شد این پژوهش با هدف مطالعه اثر روش‌های مختلف پیوند بر رشد رویشی و عملکرد میوه گوجه فرنگی انجام گردید.

مواد و روش‌ها

عملیات اجرایی این طرح در سال ۱۳۹۵ در گلخانه پژوهشی گروه باغبانی دانشگاه لرستان انجام گرفت. میوه گوجه‌فرنگی رقم "اسوی ۸۳۲۰" روی توده "Rimac" که در جدول ۱ مشخصات آن‌ها ذکر گردیده به سه روش نیمانی، مجاورتی و اسکنه مورد پیوند و ارزیابی قرار گرفت.

- 1- Tongue approach grafting
- 2- Hole insertion grafting
- 3- Side insertion grafting

جدول ۱- خصوصیات ارقام گوجه‌فرنگی
Table 1- Tomato cultivars characteristics

نام رقم Cultivars	خصوصیات Characteristics
S.V 8320	بوته خیلی قوی با شاخ برگ باز کشیده، رنگ برگ‌ها خوشرنگ، میوه گود بشقابی زاویه دار، مقاوم به سفیدک و سرگل، رقم هیبریدی، محصول شرکت سمینیس آمریکا
Rimac	وارتهی Heirloom، با طول باردهی (۷۰-۸۰) روز، بارشد نامحدود، بوته قوی، نیازمند نگهداری با قیم یا قفس، اسیدته ملایم، یکی از بهترین مزه های گوجه گیلاسی، کاربرد اغلب برای ایجاد دوره‌های جدید گوجه فرنگی، مناسب برای سالاد و اسنک

و پیوندک محل پیوند توسط گیره پیوند و چسب محکم بسته شد (شکل ۲) (۱۹).

در پیوند مجاورتی^۳ پایه و پیوندک در درون یک گلدان و نزدیک به هم کاشته شدند و در حالی که روی ریشه‌های خود قرار دارند به هم پیوند می‌شوند. به این ترتیب که برشی از بالا به پایین روی ساقه پایه و عکس آن روی ساقه پیوندک ایجاد شد و زبانه این دو برش در داخل هم قرار گرفت و محل پیوند توسط گیره یا با بستن آن با چسب و نوار تفلون محکم نگه داشته شد، بعد از گرفتن پیوند قسمت بالای پایه و بخش پایینی پیوندک قطع گردید (شکل ۳).

پس از پوشاندن گلدان‌ها با نایلون فریزر باید یکی از گوشه‌های نایلون جهت تهویه گیاه سوراخ گردد. پس از اتمام عملیات پیوند، گلدان‌ها باید به یک محیط مناسب با شرایط دمایی قابل کنترل انتقال یابند. جهت ایجاد این محیط مناسب برای گرفتن پیوند، در این طرح از یک مینی تونل به ارتفاع ۱/۵ متر و طول و عرض ۵×۲ متر استفاده شد که در کف آن برای حفظ رطوبت از گونی کفی و کلش استفاده گردید و بر روی مینی تونل برای ایجاد تاریکی نیز از گونی استفاده شد. همچنین جهت کنترل دما نیز چند لوله انتقال دهنده آب گرم از بغل تونل عبور می‌کرد. اگر شرایط محیطی جهت گیرایی پیوند در حد مطلوب باشد، عمل گرفتن پیوند ۷-۱۰ روز به طول می‌انجامد.

با این وجود، نقطه‌ای اشتراک همه‌ی این روش‌ها، نیاز به مراقبت‌های ویژه پس از انجام عمل پیوند است که در آن باید رطوبت نسبی بیش از ۹۵ درصد و تاریکی و دمای محیط ۲۷-۲۹ درجه سانتی گراد باشد که باعث افزایش تقسیمات سلولی شده و به گیرایی پیوند کمک می‌کند (۱۸)، پس از برقراری ارتباط آوندی بین پایه و پیوندک که از طریق تشکیل بافت کالوس در سطوح برش خورده صورت می‌گیرد، گیاهان پیوندی باید به مرور با شرایط محیط سازگار گردند. انتقال سریع نشاهای پیوندی به محیط بیرون باعث صدمات جدی و جبران ناپذیری به آن‌ها می‌گردد. لذا لازم است که عمل مقاوم سازی به خوبی و دقت کامل انجام گیرد.

آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (روش پیوند) همراه با تیمار شاهد (غیر پیوندی) که در سه تکرار انجام گرفت. تعداد گیاهان هر تیمار آزمایشی در تکرار ۶ گیاه بود.

بذور پایه با پیوندک در آذر ماه سال ۱۳۹۵ داخل سینی‌های نشا کشت شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد نشاها به درون گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۰ و ارتفاع ۸ سانتی‌متر انتقال داده شدند. همزمان با کشت نشاها جهت پیوند، بذور پیوندک جهت استفاده به عنوان گیاهان شاهد کشت شد. جهت کاشت از یک مخلوط خاکی با اجزای کود حیوانی، ماسه بادی و خاک باغچه به نسبت ۱:۱:۱ استفاده شد. گیاهچه‌های پایه و پیوندک در مرحله‌ی سه تا چهار برگ حقیقی آماده برای عملیات پیوند خواهند بود (۲۱).

پیوند نیمانی^۱ زمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد که پایه و پیوندک دارای قطری یکسان باشند. روش کار به این صورت است که پایه را در چند سانتی‌متری بالای سطح خاک قطع کرده و یک برش شیب‌دار یا صاف به آن می‌دهیم. بر روی پیوندک نیز برش مشابه‌ای ایجاد کرده به طوری که بتواند با پایه جفت شود. پس از جفت کردن پایه و پیوندک به طوری که لایه‌های زاینده پایه و پیوندک روی هم قرار گیرند، محل پیوند با گیره، نوار تفلون یا چسب محکم بسته شد. سپس یک مفتول سیمی به طول ۳۰ سانتی متر را به صورت انحناء در آورده و دو طرف آن را در گلدان فرو برده و یک نایلون فریزر بر روی آن قرار داده شد؛ به طوری که گیاه پیوند شده کاملاً در زیر نایلون باشد، جهت حفظ رطوبت محیط نایلون بهتر است که کمی آب داخل آن اسپری شود (شکل ۱) (۱۶).

جهت انجام پیوند اسکنه^۲ گیاه پایه را از فاصله ۴-۵ سانتی‌متری سطح خاک قطع کرده و بر روی قسمت باقی مانده در خاک شکافی به عمق ۱ سانتی‌متر به طور عمودی توسط یک تیغ تیز ایجاد کرده و سپس گیاه پیوندک که ته ساقه آن به صورت گوه‌ای بریده شده است، در داخل شکاف پایه قرار گرفته و پس از همبر کردن لایه زاینده پایه

1- Splice grafting
2- Cleft grafting

3- Approach grafting

گرفتند عبارت بودند از: اثر روش پیوند به ترتیب در دو گروه صفات کمی و کیفی: طول بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد و طول میان گره، تعداد خوشه گل، تعداد گل در خوشه، وزن تر و خشک ریشه، تعداد خوشه های میوه، تعداد میوه در خوشه، وزن تک میوه، طول و قطر میوه، وزن تر و خشک میوه، سفتی بافت میوه، طول دم میوه، میزان مواد جامد محلول و اسیدیته میوه، قطر هیپوکوتیل پایه و پیوندک، نسبت میوه بازار پسند به درجه ۲، عملکرد پیش رس، میان دوره و کل.

مدت زمان لازم از زمان پیوند تا پایان مقاوم سازی و آماده شدن نشاهای پیوندی جهت انتقال به خاک در زمین گلخانه، بیشتر از سه هفته به طول انجامید. تعداد پیوندهای موفق و ناموفق شمارش شد تا میزان گیرایی بدست آید سپس گیاهان پیوندی و نشاهای غیر پیوندی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ردیف‌هایی به فاصله یک متر و فاصله ۵۰ سانتی متر داخل ردیف‌ها، در بستری از یک مخلوط خاکی با اجزای کود حیوانی و خاک باغچه به نسبت ۱:۱ کاشته شدند. آبیاری گیاهان به روش دستی انجام گرفت.

صفتی که در این تحقیق مورد ارزیابی و اندازه‌گیری قرار



شکل ۱- پیوند نیمانی. (a)، ایجاد برش شیب‌دار با زاویه ۴۵ درجه روی پایه و پیوندک. (b)، بستن محل پیوند با گیره. (c)، ایجاد اتاقک ترمیم برای گوجه‌فرنگی‌های پیوند شده

Figure 1- Splice grafting; rootstock and scion stems are cut at a 45-degree angle (a), united grafting placed with a glue and clip (b), healing chamber for tomato grafts (c).



شکل ۲- پیوند اسکنه. (a)، شکافی به عمق یک سانتی‌متر بطور عمودی در پایه ایجاد و پیوندک که ته ساقه آن به صورت گوه‌ای بریده شده است، در داخل شکاف پایه قرار می‌دهیم. (b)، استفاده از گیره‌های پیوند برای ثابت نگه داشتن محل پیوند. (c)، گوجه‌های پیوند شده در اتاقک ترمیم.

Figure 2- Clef grafting; Bisect the rootstock stem with a single cut approximately 1cm deep and inserting the wedge end of the scion into the bisected rootstock (a), grafting clips are placed to fix the graft union site (b), grafting tomatoes are in the healing chamber (c).



شکل ۳- پیوند مجاورتی. (a)، پایه و پیوندک در حالی که روی ریشه‌های خود قرار دارند به هم پیوند می‌شوند. (b)، برداشتن گیره پس از ترمیم محل پیوند. (c)، قطع قسمت بالای پایه و بخش پایینی پیوندک هشت تا ده روز پس از گرفتن پیوند.

Figure 3- Approach grafting is a technique that allows the scion donor-plant to remain on its own rootstock until the graft heals. (a), the clip fall after healing (b), Cut rootstock top and scion roots 8 to 10 days after grafting credits (c).

سلولی و طولی شدن سلول‌ها نقش دارد و همچنین به دلیل اینکه این تنظیم کننده رشد گیاهی تأثیر خاصی بر تأخیر پیری دارد و باعث جذب بیشتر مواد غذایی و افزایش فعالیت متابولیکی می‌گردد، دلیل خوبی برای افزایش رشد در گیاهان پیوندی می‌باشد.

نوع پیوند روی تعداد شاخه جانبی در سطح احتمال ۱ درصد اثرگذار بود درحالی‌که تفاوت معنی‌داری در تأثیر روش پیوند بر تعداد شاخه‌های جانبی مشاهده نشد. گیاهان پیوندی به روش نیمانی، اسکنه و مجاورتی به ترتیب دارای تعداد ۱۰، ۹ و ۸/۶۷ شاخه جانبی بودند و کمترین تعداد در گیاهان شاهد با ۵/۶۷ مشاهده گردید.

تعداد و طول میانگره نیز تحت تأثیر پیوند قرار گرفتند و گیاهان شاهد دارای بیشترین طول میانگره بودند و همین امر باعث کاهش تعداد میانگره در واحد طول ساقه اصلی گردید. تعداد میانگره‌ها در گیاهان پیوندی به روش نیمانی و مجاورتی ۲۳ و در روش اسکنه ۲۲/۳۳ بود در حالی‌که گیاهان شاهد دارای ۱۵/۶۷ میانگره بودند بنا به نتایج بدست آمده می‌توان بیان کرد که اثر هر سه نوع روش پیوند تقریباً مشابه یکدیگر بوده و گیاهان شاهد دارای رشد معمولی بودند.

وزن تر و خشک ریشه نیز تحت تأثیر پیوند قرار می‌گیرد. ماهیت روابط بین پایه و پیوندک بسیار پیچیده بوده و به احتمال زیاد بین ترکیب هائی که از نظر ژنتیکی گوناگون می‌باشند، متفاوت است. مکانیزم تأثیر پایه و پیوندک بر یکدیگر، هنوز به اندازه کافی روشن نیست (۷ و ۱۶). اغلب مکانسیم این پدیده را به تأثیر مستقیم ساختار ژنتیکی پیوندک و ماهیت مواد پرورده‌ی آن روی تغذیه ریشه ارتباط داده‌اند. بطوری‌که در جدول ۳ مشاهده می‌شود بیشترین وزن مربوط به پیوند نیمانی با ۴۶/۴۰ و کمترین در شاهد با وزن ۳۰/۷۸ گرم بودند.

میزان مواد جامد محلول موجود در میوه‌ها با رفرکتومتر دستی (Refrectometer, Atago, Japon)، اندازه گیری شد. بعد از کالیبره نمودن دستگاه به وسیله دوقطره آب مقطر، یک قطره از عصاره میوه از هر تیمار روی قسمت مخصوص رفرکتومتر قرار داده شد و درجه بریکس قرائت و یادداشت شد. جهت اندازه‌گیری اسیدیته میوه از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد و درصد اسید برحسب اسید غالب یعنی اسید سیتریک بیان شد.

داده‌های بدست آمده توسط نرم‌افزار Excell طبقه بندی و در برنامه SPSS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

صفات رویشی

براساس داده‌های جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر روش پیوند سبب ایجاد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در صفاتی همچون طول بوته، تعداد شاخه جانبی، تعداد میانگره، طول میانگره، تعداد خوشه گل، قطر هیپوکوتیل پایه و پیوندک و وزن تر و خشک ریشه و تعداد شاخه جانبی در سطح احتمال ۱ درصد گردید. در حالی‌که بر تعداد گل در خوشه اثر گذار نبود.

مطابق جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) بیشترین طول بوته مربوط به گیاهان پیوندی به روش نیمانی، با طول ۱۲۰ سانتی‌متر بود. گیاهان شاهد با ۶۸ سانتی‌متر کمترین طول بوته را داشتند. صالحی و همکاران (۳۲) افزایش رشد در گیاهان پیوندی را به محتوای سایتوکینین بیشتر در این گیاهان نسبت دادند و از آنجایی‌که سایتوکینین در تقسیم سلولی و تشکیل اندام‌ها در مرحله‌ی تقسیم

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر روش پیوند بر صفات کمی بوته گوجه‌فرنگی
Table 2- ANOVA for the effects of grafting method on quantitative traits of tomato plants

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares					
		وزن تر و خشک ریشه Fresh and dry root weight	قطر هیپوکوتیل Diameters of hypocotyls	تعداد خوشه گل Number of flower cluster	گل در خوشه Number of Flower in cluster	طول میانگره internode Length	تعداد میانگره Number of internode
تیمار Treatments	3	123.28*	29.76*	20.11*	0.97 ^{ns}	4.02*	38.22*
خطا Error	8	23.58	5.41	4.66	0.50	0.79	1.16
ضریب تغییرات CV (%)		12.55	13.87	8.93	13.05	17.5	12.06
							1514*
							10.44**
							1.16
							12.96
							19.37

ns, ** and * are non-significant and significant at the 0.01 and 0.05, respectively.
معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد.
ns, ** and * are non-significant and significant at the 0.01 and 0.05, respectively.

جدول ۳- اثر روش‌های مختلف پیوند بر صفات کمی بوته گوجه‌فرنگی

Table 3- The effects of grafting method on quantitative traits of tomato plants

تیمار Treatments	وزن تر و خشک ریشه The ratio of fresh to dry root weight (g)	قطر هیپوکوتیل Diameters of hypocotyls (mm)	تعداد خوشه گل Number of flower cluster	طول میانگره internode Length (cm)	تعداد میانگره Number of internode	تعداد شاخه جانبی Number of Auxillary shoot	طول بوته Plant height (cm)
شاهد Control	30.78 ^b	13.33 ^b	20.33 ^b	5.67 ^a	15.67 ^b	5.67 ^b	68 ^b
پیوند نیم‌انیم Splice grafting	46.40 ^a	17.44 ^{ab}	25 ^a	5.17 ^a	23 ^a	10 ^a	120 ^a
پیوند اسکته Cleft grafting	38.01 ^{ab}	20.76 ^a	26 ^a	5 ^{ab}	22.33 ^a	9 ^a	103 ^{ab}
پیوند مجاورتی Approach grafting	39.58 ^{ab}	15.53 ^b	25.33 ^a	3.5 ^b	23 ^a	8.67 ^a	85 ^{ab}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی باشند.
Numbers followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on Duncan's multiple range test.

ترکیبات هورمونی مختلف می باشد (۳۲).

پیوند روی وزن تک میوه در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر گذار بود ولی اختلاف آماری معنی داری در نوع روش پیوند بر وزن متوسط میوه مشاهده نشد و تیمار شاهد با ۱۰۵/۳۳ دارای کمترین وزن میوه بود.

میگول و همکاران (۲۶) در تحقیق با پیوند هندوانه روی پایه های مختلف وماروتا و همکاران (۲۵) با پیوند طالبی روی پایه های کدو به این نتیجه رسیدند که اندازه و وزن میوه ها تحت تأثیر پایه ها قرار گرفت و وزن میوه‌های گیاهان پیوندی بیشتر از گیاهان غیرپیوندی بود.

اثر پیوند میزان ماده خشک میوه را نیز تحت تأثیر قرار داد و تفاوت معنی دار در سطح ۱ درصد ایجاد نمود بطوریکه تیمار شاهد با ۲۴/۸۸ بیشترین درصد وزن خشک و کمترین درصد مربوط به تیمار روش مجاورتی با ۱۲/۰۱ بود که اختلاف آماری معنی داری با سایر روش های پیوند نداشت.

طول دم میوه در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر روش پیوند قرار گرفت. بیشترین طول دم میوه در روش‌های نیمانیم، اسکنه و مجاورتی با ۱/۳۷، ۱/۳ و ۱/۲۷ بود که اختلاف آماری معنی داری با هم نداشتند و کمترین در شاهد با ۰/۹ بود.

پایه ها روی صفات کیفی میوه نیز می‌توانند تأثیر گذار باشند ولی این به نوع سبزی بستگی دارد. در گیاهی مانند خیار به طور معمول صفات کیفی نظیر طعم و مزه کمتر تحت تأثیر پایه ها قرار می‌گیرد ولی در هندوانه و خربزه، پایه‌های مختلف ممکن است اثرهای متفاوتی بر محتوای قند این میوه ها داشته باشند (۳۵). در گوجه فرنگی نیز صفات کیفی نظیر مواد جامد محلول، ویتامین ث و میزان لیکوپن با پیوند روی پایه های مختلف تغییر می‌یابد (۸).

مطابق داده‌های جدول مقایسه میانگین (جدول ۷) pH میوه‌ی گوجه فرنگی تحت تأثیر روش پیوند قرار گرفت و تفاوت معنی دار در سطح ۱ درصد ایجاد نمود. تیمار شاهد با ۴/۳۱ بیشترین میزان اسیدیته میوه و کمترین میزان اسید میوه، گوجه‌های پیوندی به روش اسکنه با ۴/۰۶ را دارا بودند.

عملکرد

همانطور که در جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) مشاهده می گردد، تفاوت معنی دار در میزان عملکرد پیش رس و میان دوره و در سطح ۱ درصد در میزان عملکرد کل بین روش‌های مختلف پیوند مشاهده گردید.

ادلستین (۵) رشد رویشی بیشتر در گیاهان پیوندی را به دلیل تأثیر سیستم ریشه در پایه مرتبط دانسته است. اکبری چشمه منش و همکاران (۲)، صالحی و همکاران نیز (۳۰) سیستم ریشه‌ای گسترده در پایه را دلیلی قانع کننده در افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌دانند.

تیمار پیوند روی قطر هیپوکوتیل پایه و پیوندک تفاوت معنی داری نشان داد. مطابق نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) بیشترین قطر هیپوکوتیل ۲۰/۷۶ مربوط به پیوند اسکنه بود.

همچنین تأثیر پیوند روی تعداد خوشه‌های گل معنی دار بود بطوریکه گیاهان پیوندی به روش اسکنه دارای تعداد ۲۶، مجاورتی ۲۵/۳۳ و نیمانیم ۲۵ خوشه گل در مقایسه با تیمار شاهد با ۲۰/۳۳ خوشه گل بودند.

تفاوت در رشد رویشی، را می‌توان به تفاوت‌های فیزیولوژیکی خاصی که بین ریشه این گیاهان وجود دارد ربط داد. در اثر افزایش طول ساقه، مسلماً در صفات طول گره و تعداد شاخه جانبی تفاوت‌هایی را در بین گیاهان پیوندی و غیرپیوندی نشان می‌دهند، چون با افزایش طول ساقه تعداد میانگره‌ها افزایش یافته و با افزایش میانگره‌ها، تعداد جوانه‌های تشکیل گل و میوه و شاخه جانبی افزایش می‌یابد (۳۰).

صفات کیفی میوه

از صفات کیفی میوه که مورد بررسی و تحت تأثیر روش پیوند واقع شد: تعداد خوشه میوه، وزن تک میوه، طول و قطر میوه، میزان ماده خشک میوه، طول دم میوه و pH میوه بودند.

تعداد میوه در خوشه، سفتی بافت میوه و میزان مواد جامد محلول (TSS) تحت تأثیر روش پیوند قرار نگرفتند (جدول ۶). این یافته با نتایج حاصله از پژوهش اکبری (۱) و صالحی (۲۷) که گزارش نمودند پیوند روی میزان مواد جامد محلول اثر معنی دار ندارد مطابقت داشت. مطابق جدول مقایسه میانگین (جدول ۷) بیشترین تعداد خوشه میوه مربوط به روش مجاورتی و نیمانیم به ترتیب با ۱۸ و ۱۷/۶۷ و سپس در روش اسکنه با ۱۶/۳۳ بود در حالی که گیاهان شاهد دارای تعداد ۱۲/۶۷ خوشه میوه بودند.

پیوند باعث افزایش طول و قطر میوه گردید. گیاهان پیوندی به روش اسکنه با ۶/۶ بیشترین طول را داشتند. بیشترین قطر میوه مربوط به گیاهان پیوندی به روش اسکنه و مجاورتی با ۶/۹۷، ۶/۶۳ و سپس نیمانیم با ۶/۳ بود. گیاهان شاهد با ۵/۷ کمترین قطر میوه را داشتند دلیل این موضوع به اثرات القا شده توسط پایه مربوط می باشد و نشان دهنده اثر مستقیم پایه روی صفات کیفی میوه از طریق تولید

جدول ۷- اثر روش پیوند بر صفات کیفی میوه گوجه‌فرنگی
Tabel 7- The effects of grafting method on qualitative characteristics of tomato fruit

تیمار Treatment	pH	طول دم میوه Length of the fruit tail (cm)	نسبت وزن تر به خشک میوه The ratio of fresh to dry fruit weight (g)	قطر میوه Fruit diameter (cm)	طول میوه Fruit length (cm)	وزن تک میوه Fruit weight (g)	تعداد خوشه میوه Number of fruit cluster
شاهد Control	4.31 ^a	0.9 ^b	24.88 ^a	5.7 ^b	5.09 ^c	105.33 ^b	12.67 ^b
پیوند نیمه‌ایم Splice grafting	4.19 ^{ab}	1.36 ^a	13.16 ^b	6.3 ^{ab}	5.75 ^{bc}	149.1 ^a	17.67 ^a
پیوند اسکته Cleft grafting	4.06 ^b	1.3 ^a	13.89 ^b	6.96 ^a	6.60 ^a	160.56 ^a	16.33 ^{ab}
پیوند مجاورتی Approach grafting	4.22 ^{ab}	1.26 ^a	12.01 ^b	6.63 ^a	5.99 ^{ab}	153.6 ^a	18 ^a

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند
Numbers followed by the same letter are not significantly different ($p \leq 0.05$) based on Duncan's multiple range test.

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر روش پیوند بر صفات کیفی میوه گوجه‌فرنگی
Table 6- ANOVA for the effects of grafting method on qualitative characteristics of tomato fruit

منبع تغییرات		درجه آزادی		میانگین مربعات Mean squares									
Source of variation	Degree of freedom	TSS	pH	طول دم میوه Length of the fruit tail	سفتی بافت Fruit firmness	نسبت وزن تر The ratio of fresh to dry fruit weight	قطر میوه Fruit diameter	طول میوه Fruit length	وزن تک میوه Fruit weight	تعداد میوه در خوشه Number of fruit in cluster	تعداد خوشه میوه Number of fruit cluster		
تیمار Treatments	3	1.40 ^{ns}	0.03 [*]	0.13 ^{**}	0.48 ^{ns}	107.34 ^{**}	0.87 [*]	1.17 [*]	1874.04 [*]	1.63 ^{ns}	17.89 [*]		
خطا Error	8	0.51	0.007	0.017	0.31	2.71	0.17	0.18	382.84	0.5	4.25		
ضریب تغییرات CV (%)		16.17	1.99	10.79	12.89	10.30	6.56	7.32	13.76	19.7	12.75		

ns، ** and * are non-significant and significant at the 0.01 and 0.05, respectively.
ns غیر معنی‌دار، * معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر روش پیوند بر عملکرد و نسبت میوه بازارپسند به درجه ۲ بوته گوجه‌فرنگی
Table 4- ANOVA for the effects of grafting method on yield and the ratio of marketable fruit to second-degree fruits in tomato plants

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of squares			
		نسبت تعداد میوه بازار پسند به درجه ۲ The ratio of marketable fruit to second degree fruit	عملکرد پیش رس در بوته Early yield per plant	عملکرد میان دوره بوته Midterm yield per plant	عملکرد کل بوته Total yield per plant
تیمار Treatments	3	62.43*	478897.68*	1141932.86*	3891166.54**
خطا Error	8	15.26	76998.05	205713.75	391082.9
ضریب تغییرات CV (%)		18.48	15.97	18.92	11.7

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.
** and * are significant at the 0.01 and 0.05, respectively.

جدول ۵- اثر روش‌های مختلف پیوند بر عملکرد و نسبت میوه بازارپسند به درجه ۲ بوته گوجه‌فرنگی
Table 5- The effects of grafting method on yield and the ratio of marketable fruit to second degree fruits in tomato plants

تیمار Treatment	نسبت میوه بازارپسند به درجه ۲ The ratio of marketable fruit to second degree fruit (g)	عملکرد پیش رس بوته Early yield per plant (g)	عملکرد میان دوره بوته Midterm yield per plant (g)	عملکرد کل بوته Total yield per plant (g)
شاهد Control	14.43 ^b	1113.43 ^b	1739.2 ^b	3641.93 ^b
پیوند نیم‌انیم Splice grafting	23.8 ^a	1626.07 ^{ab}	3140.77 ^a	5997.59 ^a
پیوند اسکنه Cleft grafting	22.1 ^a	1745.39 ^b	2077.14 ^b	5949.86 ^a
پیوند مجاورتی Approach grafting	24.22 ^a	2076.26 ^a	2628.78 ^{ab}	5791.09 ^a

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارند.
Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$) based on Duncan's multiple range test.

عملکرد میوه می‌گردد (۳۳). دلیل برتری تیمارهای موفق توان بیشتر پایه در جذب آب و مواد غذایی توسط سیستم ریشه‌ای قوی و همچنین ارتباط آوندی قوی‌تر در این تیمارها مربوط دانستند.

نتایج حاضر ممکن است ناشی از اثر متقابل همه یا بعضی از عواملی همچون افزایش جذب آب و مواد غذایی توسط سیستم ریشه ای گسترده پایه (۲ و ۳۰)، افزایش سنتر هورمون‌های گیاهی درون زاد (۳۳)، مقاومت به دمای پایین خاک (۳۸)، افزایش مقاومت به شرایط نامناسب خاک (۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۳۹) و افزایش مقاومت به آفات و بیماری‌ها (۴ و ۲۶) باشد. بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که تغییرات ناشی از پیوند توسط پایه از طریق جذب، سنتر و انتقال آب، مواد

مطابق داده‌های جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) بیشترین عملکرد پیش رس و میان دوره متعلق به گیاهان پیوندی به روش

مجاورتی و نیم‌انیم به ترتیب با ۲۰۷۶/۲۶ و ۳۱۴۰/۷۷ گرم و کمترین عملکرد در گیاهان شاهد با ۱۱۱۳/۴۳ و ۱۷۳۹/۲ گرم مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در تاثیر نوع روش پیوند بر عملکرد کل مشاهده نشد و کمترین میزان عملکرد کل در تیمار شاهد با ۳۶۴۱/۹۳ گرم مشاهده گردید.

پیوند سبزی‌هایی مانند خیار، هندوانه و گوجه‌فرنگی روی پایه‌های مختلف باعث افزایش رشد رویشی بوته و سرانجام بالا بردن

نتیجه گیری

براساس نتایج این پژوهش استفاده از روش‌های مختلف پیوند منجر به تحریک رشد اولیه گیاهان پیوندی و افزایش میزان تولید محصول گردید، همچنین گیاهان پیوندی در صفات رویشی و کیفیت میوه تولیدی بر گیاهان غیر پیوندی برتری داشتند.

گیرایی پیوند بین روش‌ها مختلف متفاوت بود و روش نیمانیسم نسبت به روش‌های اسکنه و مجاورتی برتری داشت. موفقیت یا عدم موفقیت در هر روش بستگی به امکانات موجود، ترجیح و تجربه تولید کننده نشاء پیوندی و شرایط مدیریتی پس از پیوند دارد. با این وجود نقطه اشتراک همه‌ی این‌ها، نیاز به مراقبت‌های ویژه پس از انجام عمل پیوند است و همه چیز نیازمند آموزش و کسب مهارت برای کاهش تلفات پیوند می‌باشد.

سپاسگزاری

سپاس ایزد یکتا را که این موهبت را به من ارزانی داشت تا در پرتو تلاش و کوشش این پژوهش را به انجام رسانم. بدون شک این کار پژوهشی با راهنمایی استاد ارجمند جناب آقای دکتر بهمن زاهدی مدیریت محترم گروه علوم باغبانی دانشگاه لرستان و کمک مشاور محترم خانم دکتر فاطمه مرادی‌پور و امکان‌پذیر گشته است. بنابراین شایسته است تا از همکاری این سروران سپاسگزاری نمایم. بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان کمال قدردانی و تشکر را دارم.

معدنی و تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی کنترل می‌شود (۲۳). گزارش شده است که تولید سیگنال‌های در پایه‌ها و انتقال آن به بخش پیوندک، سبب بروز تغییرانی در فیزیولوژی و مورفولوژی گیاه پیوندی می‌شود. در واقع فرضیه‌ای که قدرت رشدی القاء شده به پیوندک توسط پایه را بیان می‌کند در برگیرنده سیگنال‌های القاء شده توسط گیاه پیوندی جهت جذب آب، عناصر غذایی و به ویژه هورمون‌ها توسط پایه و انتقال آن به پیوندک می‌باشد (۲۹). در تأیید این فرضیه، تعداد زیادی ماکرو ملکول‌های متحرک از طریق سیستم آوندی پایه به پیوندک منتقل شدند. همچنین بیش تر از ۸۰۰ ترکیب آلی از گروه‌های شیمیایی مختلف در شیر خام آوند چوبی گیاه گوجه فرنگی پیوندی یافت شده است (۳).

مطابق داده‌های (جدول ۴) اثر روش‌های پیوند بر نسبت میوه بازار پسند به درجه ۲ تفاوت‌های معنی‌داری را در سطح احتمال ۵٪ ایجاد نمود. این نسبت در گیاهان پیوندی به روش‌های نیمانیسم، اسکنه و مجاورتی به ترتیب ۲۳/۸، ۲۲/۱ و ۲۴/۲۲ بود در حالی که در گیاهان شاهد با ۱۴/۴۳ بود که نشان دهنده میزان بالای میوه نامرغوب در گیاهان شاهد است (جدول ۵). دلیل این امر افزایش مقاومت گیاهان پیوند شده روی این پایه‌ها در مواجهه با تنش‌های محیطی و همچنین موفقیت پایه در جذب کارآمد عناصر غذایی پرمصرف و ریز مغذی بود که اثر شگرفی بر بازارپسندی میوه دارند، (۱۱، ۱۳ و ۳۹).

منابع

- 1- Abdemishani S., and Shahnejat-booshehri E. 1992. Plant breeding supplementary. First cover, second edition. Tehran University Publication center. PP: 384
- 2- Akbari Cheshme-Manesh A., Kashi A., and Memar-Moshrefi M. 2003. Effect of grafting two-greenhouse cucumber cv. Royal24198 & Vilmorian onto fig leaf squash rootstock. Journal of Seed and Seedling Researches 19(4): 435- 456.
- 3- Albacete A., Martínez-Andujar C., and Perez-Alfocea F. 2014. "Hormonal and metabolic regulation of source-sink relations under salinity and drought: From plant survival to crop yield stability", Biotechnology Advances 32: 12-30.
- 4- Cohen R., Burger Y., Horev C., Porat A., and Edelstein M. 2005. Performance of Galia-type melons grafted on to cucurbita rootstock in *Monosporascus cannonballus* infested and non-infested soils. Annual of Applied Biology 146: 381-387.
- 5- Edelstein M. 2004. Grafting vegetables – crop plants: pros and cons. Acta Horticulturae 659: 235-237.
- 6- Food and Agriculture Organization (2010) <http://faostat.fao.org>.
- 7- Garigourian V. 2002. Grafting physiology and grafting methods. Publication of Iranian Horticulture Science Society 290-351.
- 8- Hee-Don C., Youn S.J., and Choi Y.J. 1997. Effect of rootstocks on yield, quality and components of tomato fruits. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 38: 603-607.
- 9- Heidary Zofreh A., Kashi A., Safari Z., Kalateh Jary S., and Farhadi A. 2013. Effect of Rootstocks and different grafting methods on vegetative growth, yield and some qualitative characteristics of greenhouse cucumber. Journal of Horticultural Science 44(2): 137-147.
- 10- Henareh M., Dursum A., and Abdoullahi Mandoulakani B. 2015. Genetic diversity in tomato landraces collected from Turkey and Iran revealed by morphological characters. Acta Scientiarum Polonorum-Hortorumcultus 14(2):

- 87-96. (In Persian)
- 11- Hi Y., Zhu Z., Yang J., Ni X., and Zhu B. 2009. Grafting increases the salt tolerance of tomato by improvement of photosynthesis and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Environmental and Experimental Botany* 66: 270-278.
- 12- Huang H., Tang R., Cao Q., and Bie Z. 2009. Improving the fruit yield and quality of cucumber by grafting onto the salt tolerant rootstock under NaCl stress. *Scientia Horticulturae* 122: 26-31.
- 13- Huang Y., Bie Z., HE S., Hua B., Zhen A., and Liu Z. 2010. Improving cucumber tolerance to major nutrients induced salinity by grafting onto *Cucurbita ficifolia*. *Environmental and Experimental Botany* 69: 32-38
- 14- Kacjan Marsic N., and Osvald J. 2004. The influence of grafting on yield of two tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grown in a plastic house. *Acta Agriculturae Slovenica* 83-2: 243-249.
- 15- Kashi A., Salehi R., and Javanpour R. 2009. The grafting technique in training and produce vegetable. *Principles of Publishing Center Agricultural Education* 190-212.
- 16- Khosh-khui M. 2012. Plants propagation, Principles and methods. Shiraz University Publication center. PP: 850-904.
- 17- Khosh-khui M., Shaybany B., Rouhani I., and Tafazoli E. 1997. Principles of Horticulture Science. Shiraz University Press. PP: 100-200.
- 18- Kubota C. 2008. One cotyledon grafting method. The University of Arizona.
- 19- Lee J.M. 1994. Cultivation of grafted vegetables. I. status, grafting methods, and benefits. *Hort Science* 29: 235-239.
- 20- Lee J.M., and Oda M. 2003. "Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops" *Hort. Rev.* 28: 61-124.
- 21- Lee J.M., Kubota C., Tsao S.J., Bie Z., Hoyos Echevarria P., Morra L., and Oda M. 2010. "Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation", *Scientia Horticulturae* 127: 93-105.
- 22- Lee J.M. 2011. Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods, and benefits. *HortScience* 29: 235-239
- 23- Lee J.M., and Oda M. 2003. Advances in vegetable grafting. *Chron. Hort.* 43: 13-19.
- 24- Lee S.G., Choi J.U., Kim K.Y., Chung J.H., and Lee Y.B. 1997. Effect of rootstocks and grafting methods on the growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *RDA. J. Hort. Sci.* 39: 15-20.
- 25- Marota J.V., Pascual B., Miguel A., Bautista A.B., Lopez-Galarza S., Baixauli C., and Aguilar J.M. 2004. Influence of different rootstocks and Cycles on Serpent Melon (*Cucumis melo* var flexuoses) Productin in Soilless Cultivation. *Acta Horticulture* 614: 319-322.
- 26- Miguel A., Morato J.V., San-Bautista A., Biagxaui C., Cebplla V., Pascual B., Lopez S., and Guardiola J.L. 2004. The grafting of triploid watermelon is an advantageous alternative to soil fumigation by methyl bromide for control of fusarium wilt. *Scientia Horticulturae* 103(1): 9-17.
- 27- Miller Y.C., and Tanksley S. 1990. RFLP analysis of phylogenic relationship and genetic variation the genus *lycopersicum*, *Theor Appl Genet* 80: 437-310.
- 28- Mohamed H., El-Hamed K.E., Elwan Abd M.W.M., M.N.E H. 2014. Evaluation of different grafting methods and rootstocks in watermelon grown in Egypt. *Scientia Horticulturae* 168: 145-150
- 29- Perez-Alfocea F. 2014. "why should we investigate vegetable grafting. Proceedings of the First International Symposium on Vegetables Grafting, Wuhan, China, 17-21 March 2014.
- 30- Salehi R., Kashi A., and Lesani H. 2004. Study of the effects of different cucurbit rootstocks on vegetative and control of soil-borne diseases and physiological disorders in cucumber, watermelon and muskmelon. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology* 5(1): 59-69.
- 31- Salehi, R., Kashi, A., Babalar, M. & Delshad, M. (2009). Identification of cytokinins in xylem sap of grafted and ungrafted melon under different train treatments. *Proccedings of the 6th Iranian Horticultural Science Congress*. Guilan University, Rasht, Iran.
- 32- Salehi R., Kashi A., Lee J., M., Bablar M., Delshad M., Lee S.G., and Huh Y.C. 2010. "Leaf gas exchanges and mineral ion composition in xylem sap of iranian melon affected by rootstocks and training methods", *Journal of Horticultural Science* 45(5): 766-770.
- 33- Salehi-Mohammadi R., Kashi A., Lee S.G., Hou Y.C., Lee J.M., Babalar M., and Delshad M. 2009. Assessing the survival and growth performance of Iranian Melon to Grafting onto *Cucurbita* Rootstocks. *Korean Journal of Horticulture Science and Technology* 27(1): 1-6.
- 34- Tanksley, S.D. and S.R. Mc couch, (1997). Seed banks and molecular maps; unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277: 1063-1066.
- 35- Traka-Mavrona E., Koutsika-Sotiriou M. and Pritsa T. 2000. Response of squash (*Cucurbita* spp.) as rootstock for melon (*Cucumis melo* L.). *Sci. Hort.* 83: 353-362.
- 36- Turhan A., Ozmen N., Serbeci M.S., Seniz V. 2011. Effect of grafting on different rootstocks on tomatoe fruit yield and quality. *Sci (Prague)* 38: 142-149.
- 37- Yamakata B. 1983. Grafting vegetable handbook. Yokendo book co Tokyo. PP: 141-153.
- 38- Zhou Y., Zhou J., Huang L., Ding X., Shi K., and Yu J. 2009. Grafting of *Cucumis sativus* onto *Cucurbita ficifolia*

leads to improved plant growth, increased light utilization and reduced accumulation of reactive oxygen species in chilled plants. *Journal of plants Research* 122: 529-540.

- 39- Zi-kun Z., Shi-qi L., Shu-qin H., and Su-hui L. 2010. Grafting increases the copper tolerance of cucumber seedlings by improvement of polyamine contents and enhancement of antioxidant enzymes activity. *Agricultural Sciences in China* 9(7): 985-994.



Effect of Different Grafting Methods on Vegetative Growth and Yield of Tomato Fruit

H. Eini Garsadafi¹- B. Zahedi^{2*}-F. Moradi poor³

Received: 05-12-2018

Accepted: 23-02-2020

Introduction: Today in order to produce vegetable fruits tolerant to adverse environmental conditions and increase growth, yield and fruit quality, grafting methods have been created. Tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most important greenhouse products. Heirloom tomato cultivars lack disease genetic resistance and are particularly susceptible to epidemics in the field. Grafting can be used to unite the soil borne disease resistance and enhanced vigor of hybrid tomato cultivars with the high fruit quality of heirloom cultivars. There are deficiencies in vegetable grafting including skills for grafting operation performance and after the grafting, having enough knowledge to select rootstock, farm management in application of required fertilizers, graft incompatibility, excessive vegetative growth of grafting plant and physiological abnormalities, and fruit quality reduction. For grafting herbaceous plants such as vegetables, depending on the type of plant, plant size, grafting purpose, available equipment, preference and experience of the grafting plant producer and post-grafting management, different grafting methods have been introduced which is for different species and the used method is completely different. Each method has its own advantages and disadvantages, which are effective in the survival and development of grafting plants. This experiment was conducted in order to evaluate the effect of grafting methods on yield and vegetative growth of tomato plants.

Material and Methods: Three common grafting methods, splice, cleft and approach grafting were evaluated for tomato "SV 8320" cultivar grafted on "Rimac" rootstock. Executive operations were conducted in a completely randomized design with three replications at greenhouse of Lorestan Agriculture Faculty. Plant height, number of auxiliary shoot, number and length of internodes, number of fruit cluster, number of flower in cluster, root fresh and dry weight, number of fruit cluster, number of fruit in cluster, width and diameter of fruit, fruit weight, fruit fresh and dry weight, length of fruit tail, fruit tissue firmness, total soluble solid, pH, diameters of hypocotyl, pre, middle and total yield, ratio of the marketable fruits to second degree fruits, and fruit tissue firmness were recorded. Data was analyzed using SPSS software and means were compared by Duncan's multiple range test.

Results and Discussion: Grafting method had significantly effect on plant height, number and length of internode, root fresh and dry weight, number of fruit cluster, width and diameter of fruit, fruit weight, fruit fresh and dry weight, length of fruit tail, fruit tissue firmness, pH, pre, middle and total yield, the ratio of the marketable fruits to second degree fruits at 5% of probability level. Vegetative characteristics and yield in grafted plants were higher compared to non-grafted plants.

Conclusion: According to results of this experiment using different grafting methods lead to stimulate growth in grafting plants, increasing production and product quality. Changes caused by the rootstock are controlled through water absorption, synthesis and transition of water, minerals and herbal hormones. Signal generation in the rootstocks and transition of them to the scion, causes changes in the physiology and morphology of the grafted plant. Grafting success varied between grafting methods, so that splice grafting is better than other methods. Graft compatibility was shown by the ability of tissue to regenerate and the vessels ability in wound tissues to rejoin together then grow and develop as a vigorous composite plant. Attempts to increase the productivity of grafted plant should be followed by the application of good agricultural practices.

Keywords: Approach grafting, Cleft grafting, Growth, Scion, Splice grafting

1, 2 and 3- Master's Degree Horticultural Plant Breeding, Professor and Ph.D., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Lorestan University, respectively.

(*- Corresponding Author Email: Zahedi.b@lu.ac.ir)



مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) بر سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی

محسن مرادی^۱ - فرهنگ رضوی^{۲*} - ولی ربیعی^۳ - مرتضی سلیمانی اقدم^۴ - لایلا صالحی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۳

چکیده

در این پژوهش تأثیر تیمار پس از برداشت گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) (صفر، ۱ و ۵ میلی‌مولار به صورت غوطه‌وری به مدت ۱۰ دقیقه) بر سرمازدگی میوه گوجه‌فرنگی در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان سرمازدگی در میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز نسبت به شاهد کمتر می‌باشد که با کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید (MDA) همراه می‌باشد. علاوه بر این، میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز دارای فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) می‌باشند که منجر به تجمع بالای اسید آسکوربیک می‌گردد. علاوه بر این، تجمع بالای فنل و فلاونوئید کل در میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به تیمار GABA می‌تواند در اثر فعالیت بالای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز (PAL) در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز باشد. نتایج حاصله نشان می‌دهد که تیمار GABA، سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی را در طول نگهداری از طریق افزایش فعالیت مسیر فنیل پروپانویید و تحریک فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهد که در حفظ انسجام غشای سلولی موثر می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: انسجام غشایی، سرمازدگی، سیستم آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH، گوجه‌فرنگی

مقدمه

میوه فرازگرا می‌تواند در مراحل ابتدای رسیدن فیزیولوژیکی برداشت شود (۵)، سپس در طی انبارمانی یا حمل و نقل به بازارهای مورد نظر رسانده شود، این روش باعث افزایش عمر انبارمانی و کاهش ضایعات شده، همچنین می‌تواند زمان عرضه به بازار را کنترل کند (۳۶). گوجه‌فرنگی طول عمر کوتاهی دارد که معمولاً حدود ۲ تا ۳ هفته به طول می‌انجامد. هر اندازه سفتی بافت میوه زیاد باشد باعث افزایش مدت انبارمانی میوه و کاهش ضایعات می‌گردد. اگر تحت شرایط خاصی بتوان از نرم شدن سریع میوه جلوگیری نمود و کیفیت میوه را حتی برای مدت کوتاهی حفظ کرد، در این صورت می‌توان از درصد بالای ضایعات این محصول جلوگیری نمود (۱۵).

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک اسید آمینه غیر پروتئینی چهار کربنه است که در موجودات پروکاریوت و یوکاریوت یافت می‌شود، اگرچه نقش آن در گیاهان به طور کامل شناخته نشده است اما به نظر می‌رسد در انتقال سیگنال دفاعی دخالت دارد (۲۸). مشخص شده است که GABA اغلب در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده از جمله خشکی، شوری، کمبود اکسیژن، زخم و آلودگی عوامل بیماری‌زا سریعاً تجمع می‌یابد (۶). GABA به عنوان مولکول سیگنالی نقش‌های مهمی در رشد و نمو گیاه، تنظیم pH، تنظیم

یکی از مشکلات اصلی محصولات گرمسیری و نیمه گرمسیری در دوره پس از برداشت حساسیت آنها به دمای پایین می‌باشد که منجر به ایجاد آسیب سرمازدگی می‌شود. آسیب سرمازدگی انبارمانی این محصولات را محدود کرده و منجر به کاهش معنی‌داری در کیفیت محصول می‌گردد. میوه گوجه‌فرنگی حساسیت بالایی به سرمازدگی داشته و نگهداری آن در دمای زیر ۱۲ درجه سانتی‌گراد موجب سرمازدگی می‌شود (۴۰). خسارت سرمازدگی با رنگ‌گیری آهسته و غیر طبیعی، افزایش حساسیت به بیماری‌ها، کاهش وزن و فرورفتگی سطحی مشخص می‌شود. این علائم زمانی ظاهر می‌شوند که میوه به دمای بالا منتقل می‌شود (۲۶). گوجه‌فرنگی به عنوان یک

۱ و ۲ - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(*) - نویسنده مسئول: Email: razavi.farhang@znu.ac.ir

۴ - استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی، قزوین، ایران

۵ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۰، در صورت مشاهده فرورفتگی سطحی کمتر از ۲۵ درصد، نمره ۱، فرورفتگی سطحی بین ۲۵ تا ۵۰ درصد نمره ۲، فرورفتگی سطحی بین ۵۰ تا ۷۵ درصد نمره ۳ و بیش از ۷۵ درصد فرورفتگی میوه نمره ۴ داده شد. و با استفاده از فرمول زیر شاخص سرمازدگی ارزیابی گردید.

$$(۱) \quad \text{سطح (نمره مربوطه)} \times \Sigma = \text{شاخص سرمازدگی}$$

۴ × تعداد کل میوه / [تعداد میوه دارای علامت سرمازدگی

اسید آسکوربیک: میزان اسید آسکوربیک موجود در عصاره میوه به وسیله روش یدومتربیک اندازه گیری شد و میزان اسید آسکوربیک بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد (۱۷).

نشت یونی، میزان پرولین و مالون دی آلدئید: نشت یونی

طبق روش توصیف شده توسط زائو و همکاران (۴۰) مورد ارزیابی قرار گرفت. یک گرم بافت میوه را خرد کرده و سپس قطعات میوه، داخل فالكون ۱۵ میلی لیتری ریخته شد، ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به فالكون ها اضافه شد و میزان هدایت الکتریکی آن ها در دو مرحله جداگانه، یکی پس از یک ساعت قرارگیری در بن ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و دیگری پس از ۲۰ دقیقه قرارگیری در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر با دستگاه EC متر قرائت شد. میزان پرولین به روش نین هیدرین اندازه گیری شد (۴۰) و نتایج به صورت میکروگرم بر گرم وزن تر بیان گردید. مالون دی آلدئید بر اساس روش تیوباربیتوریک اسید توصیف شده توسط زائو و همکاران (۴۰) اندازه گیری گردید و بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر میوه بیان شد.

آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز: اندازه گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز با استفاده از روش بیان شده توسط گالوز و همکاران (۱۳) با ایجاد کمی تغییرات انجام شد. واحد فعالیت آنزیم بر اساس میزان تغییرات جذب در هر میلی لیتر از عصاره آنزیم گزارش شد.

فنل کل، فلاونوئید کل و ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH

میزان فنل کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو اندازه گیری گردید (۱۵). برای این منظور ۲ میلی لیتر Na_2CO_3 و ۰/۱ میلی لیتر از واکنش فولین سیوکالتو (۵۰ درصد) مورد استفاده قرار گرفت. همچنین میزان فلاونوئید کل عصاره ها با روش ارائه شده توسط کاجو و همکاران (۱۹) اندازه گیری شد. برای این منظور، روی ۰/۲۵ میلی لیتر از نمونه ها با رقت مناسب، ۷۵ میکرولیتر NaNO_2 (۵ W/V) و ۰/۱۵ میلی لیتر AlCl_3 (۱۰ W/V) و ۰/۵ میلی لیتر NaOH یک مولار اضافه شد و با اضافه کردن آب مقطر حجم نهایی به ۲/۵ میلی لیتر رسید. سپس جذب محلول پس از ۵ دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای اندازه گیری ظرفیت جاروب کنندگی رادیکال DPPH از روش DPPH استفاده شد (۷).

اسمزی جلوگیری از تجمع گونه های فعال اکسیژن، دفاع در برابر تنش های زنده و غیرزنده ایفا می کند (۲۴). کاربرد خارجی گاما آمینوبوتیریک اسید باعث افزایش مقاومت پس از برداشت میوه های موز (۳۵)، و هلو در برابر سرمازدگی می شود (۲۷). گزارش شده است که در طی تنش سرما متابولیسم GABA در بافت میوه افزایش می یابد. بنابراین استفاده از GABA به عنوان تیمار پس از برداشت می تواند یک رویکرد ایمن از نظر سلامت غذایی و دارویی برای افزایش نگهداری و ارتقا ارزش تغذیه ای در محصولات باغبانی مورد استفاده قرار گیرد (۲۸). لذا هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر تیمار پس از برداشت GABA بر سرمازدگی و خواص بیوشیمیایی گوجه فرنگی رقم ازمیر بود.

مواد و روش ها

تهیه میوه ها و تیمار با GABA: جهت اجرای آزمایش، میوه های گوجه فرنگی رقم ازمیر (*Solanum lycopersicum* cv. Izmir) در مرحله سبز بالغ از گلخانه تجاری واقع در زنجان برداشت شد، سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه زنجان منتقل شدند. تیمارهای آزمایش شامل گاما آمینوبوتیریک اسید در سه سطح (۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) به همراه شاهد (آب مقطر) بود. میوه های گوجه فرنگی تیمار شده در قالب ۴۸ واحد آزمایشی و شامل ۴ میوه در هر واحد آزمایشی بود. پس از اعمال تیمارها، میوه ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق خشک شدند. سپس به سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۹۰ درصد منتقل شدند. از نمونه های موجود در هر تیمار به فاصله هر ۷ روز یک بار در دوره ۲۸ روزه از سردخانه نمونه برداری و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تیمارهای (گاما آمینوبوتیریک اسید و شاهد) و زمان انبارمانی (۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) بود. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS20 آنالیز و مقایسه میانگین ها از طریق آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

شاخص ها و صفات اندازه گیری شده

شاخص سرمازدگی: برای اندازه گیری شاخص سرمازدگی در

هر زمان نمونه برداری ۳ میوه به صورت تصادفی از هر تیمار و تکرار انتخاب گردید و به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳ روز منتقل گردیدند تا جهت اندازه گیری شاخص سرمازدگی میوه بر اساس میزان فرورفتگی سطحی میوه که مهمترین علامت سرمازدگی در میوه گوجه فرنگی می باشد (۹) مورد استفاده قرار گیرد. شاخص سرمازدگی بر اساس میزان سطحی از میوه که فرورفتگی سطحی را نشان داده مورد بررسی قرار گرفت، اگر در میوه فرورفتگی سطحی مشاهده نشد

های تیمار شده افزایش یافت (جدول ۱). اقدام و همکاران (۳۰) گزارش کردند که تیمار پس از برداشت GABA در میوه هلو باعث حفظ اسید آسکوربیک نسبت به شاهد شد. اسید آسکوربیک در بسیاری از مسیرهای آنتی‌اکسیدانی موثر در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد و همچنین نقش قابل توجهی در نگهداری میوه‌ها در طول دوره رشد و نمو روی درخت و همچنین پس از برداشت و در طول انبارمانی به عهده دارد (۲۲). همچنین کاهش میزان اسید آسکوربیک را می‌توان به کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها طی انبارمانی نسبت داد (۲). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی سبب بالا رفتن تحمل به دمای پایین طی انبارمانی میوه می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد خود اکسیده شده و قدرت اکسیدکنندگی و ایجاد خسارت توسط رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش را از بین می‌برد (۱۱). کاربرد پس از برداشت GABA در میوه موز باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه شده است (۳۵).

فعالیت آنزیم PAL، میزان فنل کل و فلاونوئید کل: نتایج

این آزمایش نشان داد که فعالیت آنزیم PAL در میوه‌های شاهد و تیمار با GABA در طول دوره انبارمانی روند افزایشی داشت اما فعالیت آنزیم PAL در میوه گوجه‌فرنگی تیمار شده با GABA به طور محسوسی بالاتر بود (جدول ۱). همچنین در میوه‌های تیمار شده با گاما آمینوبوتیریک اسید میزان فنل و فلاونوئید کل در طی دوره انبارمانی افزایش یافت (جدول ۱) که می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم PAL در ارتباط باشد. آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز به عنوان آنزیم کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئید، تبدیل فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید را کاتالیز می‌نماید که اولین مرحله در بیوسنتز فنیل پروپانوئیدها بوده که منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، لیگنین، فیتوالکسین‌ها و فلاونوئیدها می‌گردد (۱۰). افزایش فعالیت آنزیم PAL یکی از مکانیسم‌های کاهش آسیب سرمازدگی در گیاهان می‌باشد. این آنزیم به وسیله تنش‌های زنده و غیرزنده مانند زخم‌های مکانیکی، دمای بالا و پایین، تابش UV و آلودگی‌های قارچی و سایر تنش‌ها تحریک می‌گردد و در نتیجه تجمع موادی مانند اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها را در بر دارد (۲۱). یانگ و همکاران (۳۹) گزارش کردند که تیمار GABA باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در میوه هلو شده است. تیمار GABA در دوره پس از برداشت باعث تحریک فعالیت آنزیم PAL شده و سبب افزایش ترکیبات فنلی گردیده که در نتیجه منجر به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در بافت میوه می‌شود. GABA علاوه بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، از تولید گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش جلوگیری می‌کند (۳۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز: برای

عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی جهت استخراج آنزیم‌های مورد بررسی از بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار با pH=۷ حاوی ۰/۲ درصد پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) استفاده شد و به ازای یک گرم وزن تر میوه ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج اضافه شد. پس از همگن شده نمونه‌ها، عصاره رویی جدا و از آن برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد نظر (کاتالاز و پراکسیداز) استفاده شد (۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: برای

عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی، ۲۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌لیتر با pH=۶/۶ حاوی یک درصد پلی‌وینیل‌پیرولیدین استفاده شد. پس از همگن شدن نمونه‌ها، عصاره رویی جدا و از آن برای سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد (۳۴).

نتایج و بحث

شاخص سرمازدگی و نشت یونی: نتایج این تحقیق نشان

داد که گاما آمینوبوتیریک اسید تأثیر معنی‌داری در کاهش شاخص سرمازدگی میوه گوجه‌فرنگی در طول دوره انبارمانی داشت (جدول ۱). همچنین GABA به طور معنی‌داری موجب کاهش نشت یونی در میوه گوجه‌فرنگی شد. وانگ و همکاران (۳۵) تأثیر تیمار GABA بر سرمازدگی پس از برداشت میوه موز را بررسی نمودند و نشان دادند که میوه‌های تیمار شده با GABA به طور معنی‌داری درصد سرمازدگی و نشت یونی را در میوه موز کاهش داده است. به طور کلی اولین خسارت تنش سرما، اختلال در عملکرد غشا و نفوذپذیری انتخابی آن است که موجب نشت یون‌ها به خارج از سلول شده و باعث افزایش رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود و بنابراین واکنش رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای سلولی اتفاق می‌افتد و باعث پراکسیده شدن لیپیدهای غشا و در نهایت باعث اختلال در نفوذپذیری انتخابی و نشت یون‌ها به بیرون سلول می‌شود (۲۰).

اسید آسکوربیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج نشان داد که

میزان اسید آسکوربیک در زمان برداشت ۴۲/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بود که با گذشت زمان آزمایش در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. استفاده از GABA سبب حفظ معنی‌دار اسید آسکوربیک نسبت به شاهد گردید. بیشترین میزان اسید آسکوربیک در تیمار ۵ میلی-مولار مشاهده شد. اسید آسکوربیک جزء مواد آنتی‌اکسیدانی مهم است و در طول دوره انبارمانی کاهش پیدا می‌کند که در تحقیق حاضر نیز این اتفاق افتاد اما اثر تیمار GABA موجب حفظ مقدار اسید آسکوربیک در طول دوره انبارمانی نسبت به شاهد شدند و همچنین با افزایش طول دوره انبارمانی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه

جدول ۱- تاثیر گاما آمینوبوتیریک اسید بر صفات ارزیابی شده میوه گوجه‌فرنگی در انبارمانی سرد

Table 1- Effect of γ -Aminobutyric acid on evaluated properties of tomato fruits during cold storage

صفات		تیمار							
زمان انبارمانی Storage time (day)	صفات Traits	تیمار							
		گاما آمینوبوتیریک اسید GABA (mM)	شاخص سرمازدگی Chilling Injury (%)	اسید آسکوربیک Vitamin c (mg/100g FW)	فنل کل Total phenols (mg/100g FW)	فلاونوئید کل Total flavonoids (mg/100g FW)	ظرفیت آنتی اکسیدان Antioxidant capacity (%)	پرولین Proline (μ g/g FW)	نشت یونی Ion leakage (%)
7	شاهد	شاهد	4.16 ^f	35.34 ^{bc}	7.32 ^{ef}	0.68 ^{cd}	25.37 ^e	216.99 ^{e-h}	10.53 ^{hij}
		0.1	0	34.56 ^{bcd}	6.41 ^{fg}	0.2 ^e	25.21 ^e	150.19 ^h	9.46 ^{ij}
		1	0	36.64 ^b	6.13 ^{fg}	0.44 ^{de}	25.2 ^e	139.95 ^h	8.4 ⁱ
		5	0	41.58 ^a	6.63 ^{efg}	0.71 ^{cd}	24.77 ^e	288.1 ^{d-g}	8 ⁱ
14	شاهد	شاهد	7.29 ^e	29.88 ^{d-g}	4.35 ^{gh}	0.6 ^{cde}	26.06 ^e	195.44 ^{gh}	16.83 ^g
		0.1	0	33.52 ^{b-e}	6.93 ^{ef}	0.7 ^{cd}	28.64 ^d	184.67 ^{gh}	11.93 ^{hi}
		1	0	36.38 ^b	8.95 ^e	1 ^{bc}	29.35 ^d	330.12 ^d	12.86 ^h
		5	0	36.9 ^b	13.72 ^d	1.28 ^b	25.47 ^e	384 ^{cd}	15.76 ^g
21	شاهد	شاهد	26.04 ^b	25.46 ^{ghi}	3.49 ^h	0.39 ^{de}	22.2 ^f	221.84 ^{e-h}	25.96 ^d
		0.1	13.02 ^d	27.54 ^{gh}	15.18 ^{cd}	1.78 ^a	34.23 ^{bc}	298.34 ^{def}	19.76 ^f
		1	8.33 ^e	29.36 ^{efg}	16.39 ^c	1.77 ^a	32.22 ^c	380.76 ^{cd}	21.63 ^{ef}
		5	4.16 ^f	31.18 ^{c-f}	20.78 ^b	2.16 ^a	33.81 ^b	477.19 ^{bc}	24.13 ^d
28	شاهد	شاهد	48.95 ^a	17.41 ^j	3.01 ^h	0.18 ^e	21.62 ^f	309.65 ^{de}	37.96 ^a
		0.1	20.83 ^c	22.35 ^{hi}	24.05 ^a	1.89 ^a	35.74 ^b	469.65 ^{bc}	30.53 ^c
		1	11.97 ^d	22.86 ⁱ	24.86 ^a	1.82 ^a	38.36 ^a	507.36 ^b	32.8b ^c
		5	8.33 ^e	24.42 ^{hi}	25.51 ^a	2.05 ^a	40.26 ^a	616.18 ^a	35.13 ^b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letter had no significant different at the 5% of probability level using Duncan's multiple range test.

ادامه جدول ۱- تأثیر گاما آمینوبوتیریک اسید بر صفات ارزیابی شده میوه گوجه‌فرنگی در انبارمانی سرد
Table 1- Effect of γ -Aminobutyric acid on evaluated properties of tomato fruits during cold storage

زمان انبارمانی Storage time (day)	تیمار Traits		صفات				
	گاما آمینوبوتیریک اسید GABA (mM)	شاهد	مالون دی آلدئید MDA ($\mu\text{mol/g FW}$)	فنیل آلانین آمولیاناز PAL activity ($\mu\text{mol/g FW}$)	کاتالاز CAT activity (mg/g FW min)	پراکسیداز POD activity (U g/FW min)	سوپراکسید دیسموتاز SOD activity (U g/FW min)
7	Control	شاهد	0.29 ^{ef}	27.76 ^{ij}	6.33 ⁱ	65.43 ⁱ	99.25 ^j
	0.1		0.31 ^{def}	30.59 ^{hij}	6.33 ⁱ	73.09 ^h	80.8 ^k
	1		0.19 ^g	28.74 ^{hij}	7.91 ^{hi}	76.92 ^h	101.68 ^j
	5		0.25 ^{fg}	25.82 ^j	9.5 ^{hi}	84.91 ^g	92 ^{jk}
14	Control	شاهد	0.41 ^e	32.58 ^{ghi}	9.5 ^{hi}	93.57 ^f	136.33 ⁱ
	0.1		0.37 ^{cd}	42.96 ^f	11.08 ^{ghi}	92.34 ^f	159.99 ^h
	1		0.38 ^{cd}	36.63 ^g	14.25 ^{fgh}	98.72 ^f	146.54 ⁱ
	5		0.33 ^{de}	33.4 ^{gh}	22.17 ^{de}	116.34 ^d	176.77 ^g
21	Control	شاهد	0.56 ^{ab}	42.14 ^f	19 ^{def}	119.37 ^d	187.66 ^{fg}
	0.1		0.45 ^c	61.91 ^d	20.58 ^{def}	126.39 ^e	194.81 ^{ef}
	1		0.42 ^c	56.21 ^e	25.34 ^{bcd}	135.61 ^b	182.76 ^{fg}
	5		0.42 ^c	51.67 ^e	31.67 ^b	144.25 ^a	212.15 ^{cd}
28	Control	شاهد	0.63 ^a	54.24 ^e	17.42 ^{efg}	85.11 ^g	201.83 ^{de}
	0.1		0.57 ^{ab}	81.12 ^a	28.5b ^c	92.46 ^f	238.5 ^b
	1		0.53 ^b	74.31 ^b	31.67 ^b	95.7 ^f	222.12 ^{cd}
	5		0.54 ^b	68.27 ^c	41.17 ^a	105.02 ^e	252.81 ^a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.
Means in each column followed by similar letter had no significant different at the 5% of probability level using Duncan's multiple range test.

آمینوبوتیریک اسید مشاهده شد (جدول ۱). حفظ انسجام سلولی در دمای پایین عامل مهمی در مقاومت به سرمازدگی در محصولات باغبانی می‌باشد (۳۷). مالون دی آلدئید محصول ثانویه اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشا است که به عنوان شاخص پراکسیداسیون غشا شناخته شده است (۱۴). تنش سرمایی در میوه‌ها سبب تغییر ساختار غشا به وسیله پراکسیداسیون غشا می‌شود،

مالون دی آلدئید: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار مالون دی آلدئید نمونه‌ها با گذشت زمان انبارداری افزایش یافت. تیمار گاما آمینوبوتیریک اسید تأثیر معنی‌داری در جلوگیری از افزایش میزان مالون دی آلدئید میوه گوجه‌فرنگی در طول دوره انبارمانی داشت و کمترین میزان مالون دی آلدئید در غلظت ۱ و ۵ میلی‌مولار گاما

پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی با تجمع MDA موجب ایجاد آسیب سرمازدگی در محصولات باغبانی می‌گردد (۳). کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا توسط تیمار GABA در گوجه‌فرنگی (۴) و لیمو (۲۰) تحت تنش شوری، و فلفل سیاه تحت تنش اسمزی گزارش شده است (۲۹).

میزان پرولین: نتایج این تحقیق نشان داد که میزان پرولین در طول دوره انبارمانی در دمای سرمازدگی در میوه‌های تیمار شده با GABA و شاهد افزایش معنی‌داری داشت و بیشترین میزان پرولین در تمامی مراحل نمونه‌برداری در تیمار ۵ میلی‌مولار گاما آمینوبوتیریک اسید بدست آمد (جدول ۱). پرولین یکی از مهمترین اسمولیت‌ها در بسیاری از گیاهان است که در شرایط تنش تولید آن در گیاه افزایش می‌یابد (۳۸). در گیاهان سنتز پرولین از طریق مسیر گلوتامات با اورنیتین و با فعالیت آنزیم‌های پرولین ۵- کربوکسیلات سنتاز (P5CS) و با اورنیتین آمینو ترانسفراز (OTA) انجام می‌گیرد. میزان تجمع پرولین همچنین به تجزیه شدن به وسیله آنزیم پرولین دهیدروژناز (PDH) بستگی دارد (۱۲). شانگ و همکاران (۲۷) گزارش کردند که تیمار پس از برداشت میوه هلو با گاما آمینوبوتیریک اسید موجب افزایش فعالیت OAT و P5CS و کاهش فعالیت PDH در میوه هلو و افزایش معنی‌داری در میزان پرولین می‌گردد. پرولین از اسیدی شدن بیش از حد سلول جلوگیری می‌کند. در نتیجه GABA با تجمع پرولین نقش مهمی را در حفاظت از ساختمان آنزیم‌ها ایفا می‌کند (۱۶).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز: نتایج پژوهش نشان داد که تیمار GABA تاثیر معنی داری در افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز (POD) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در طول دوره انبارمانی داشت (جدول ۱). گیاهان برای کاهش دادن اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای متفاوتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. آنزیم کاتالاز یک آنزیم آنتی اکسیدانی مهم است که برای فعال شدن بسیاری از پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش‌ها ضروری است. کاتالاز یک آنزیم آهن‌دار است که در تمام یوکاریوت‌ها یافت می‌شود و همراه با آنزیم‌های دیگر فعالیت حذف رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد (۱۸). در تنش‌های زنده و غیر زنده، GABA باعث تحریک و فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌گردد و از این طریق رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن پاکسازی شده و در نهایت گیاه و بافت را در برابر تنش اکسیداتیو حفظ می‌کند، تیمار GABA فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را تحت تاثیر قرار می‌دهد که ثبات غشاء سلولی را در برابر اثرات زیان‌آور گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مثل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید H_2O_2 ، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن

حفاظت می‌کند (۲۳). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز در واکنش بافت‌های گیاهی نسبت به پیری و تنش نقش دارند. فعالیت این آنزیم‌ها برای جلوگیری از صدمات وارده از طریق گونه‌های فعال اکسیژن ضروری می‌باشد، آنزیم پراکسیداز همچنین در اکسیداسیون پیش ماده‌های ترکیبات فنلی، ساخت لینگین و حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد (۱). تاثیر تیمار پس از برداشت ۲۰ میلی مولار GABA بر میوه موز باعث افزایش فعالیت پراکسیداز شده و چون این آنزیم در چوبی شدن دیواره سلولی نقش دارد احتمالاً با افزایش استحکام دیواره سلولی باعث کاهش میزان سرمازدگی و در نتیجه باعث سفتی و افزایش کیفیت محصول در مدت انبارمانی شده است (۳۵). آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز یکی از اصلی‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول است، که می‌تواند باعث تبدیل رادیکال سوپر اکسید به هیدروژن پراکسید شود و همچنین نقش اصلی حفاظت در مقابل ROS را بر عهده آنزیم SOD می‌باشد (۲۵). این آنزیم اولین سد دفاعی را تشکیل می‌دهد که رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند. سپس پراکسید هیدروژن می‌تواند توسط آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سیکل آسکوربات-گلوتاتیون که در کلروپلاست عمل می‌کند یا توسط پراکسیداز در دیواره سلولی و سیتوپلاسم به آب و اکسیژن مولکولی تجزیه گردد (۳۱). در گیاه فلفل، تیمار GABA باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و POD گردید و سبب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش شد. SOD و POD همراه با سایر آنزیم‌ها در چرخه آسکوربات گلوتاتیون و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن باعث کاهش اثرات منفی تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (۳۲).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان بیان کرد که گاما آمینوبوتیریک اسید می‌تواند به عنوان یک راهکار پس از برداشتی برای کاهش آسیب سرمازدگی در میوه گوجه‌فرنگی مورد استفاده قرار گیرد. تاثیر GABA در کاهش آسیب سرمازدگی در میوه گوجه‌فرنگی می‌تواند به افزایش انسجام غشای سلولی در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش نشت یونی و مالون دی آلدئید مربوط باشد. افزایش میزان پرولین در میوه‌های تیمار شده نیز می‌تواند دلیلی بر افزایش مقاومت به سرمازدگی در میوه‌ها باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که نقش انسجام غشای سلولی در مقاومت به سرمازدگی از متابولیسم فنیل پروپانویید، فعالیت آنزیم PAL و افزایش فنل کل در میوه‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با گاما آمینوبوتیریک اسید می‌باشد.

- 1- Ali A., Maqbool M.G., Alderson P., and Zahid N. 2013. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. *Postharvest Biology and Technology* 76: 119–124.
- 2- Arena E., Fallico A. and Maccarone E. 2001. Evalution of antioxidant capacity of blood orange juice as influenced by constituents concentrate. *Food Chemistry* 74: 423-427.
- 3- Asghari M.R. and Aghdam M.S. 2010. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. *Trends Food Science Technology* 21: 502-509.
- 4- Bolarin M.C., Santa-Cruz A., Cayuela E., and Perez-Alfocea F. 1995. Short-term solute changes in leaves and roots of cultivated and wild tomato seedlings under salinity. *Journal of Plant Physiology* 147: 463–468.
- 5- Cantwell M.I., and Kasmire R.F. 2002. *Postharvest Handling Systems: Fruit Vegetables*, In: Kader, A. A. (Ed.), *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California, Agriculture and Nature Resources, Davis 407–423.
- 6- Deewatthanawong R., Rowell P. and Watkins C.B. 2010. γ -Aminobutyric acid (GABA) metabolism in CO₂ treated tomatoes. *Postharvest Biology and Technology* 57: 97-105.
- 7- Dehghan G., and Khoshkam Z. 2012. Tin (11)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry* 131: 422-426.
- 8- Dhindsa R.S., and Thrope T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- 9- Ding C.K., Wang C.Y., Gross K.C., and Smith D.L. 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta* 214: 895–901.
- 10- Dixon R.A., and Paiva N. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7(7): 1085–1097.
- 11- Du G., Li M., Ma F., and Liang D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry* 113: 557-562.
- 12- Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados L., and Alvarez M.E. 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Mol. Plant–Microbe Interact* 17: 343–350.
- 13- Galvez A.B, Garcia M.V., Corrales J.C., Lopez A.C., and Valenzuela J.A.L. 2010. Effect of gradual cooling storage on chilling injury and phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato fruit. *Journal Food Biochemistry* 34: 295–307.
- 14- Heath R., and Packer L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts, Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biology Physiology* 125: 189-198.
- 15- Hsu Y.M., Lai C.H., Chang C.Y., Fan C.T., and Chen C. T. 2008. Characterizing the lipid lowering effects and antioxidant mechanisms of tomato paste. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 72: 677-685.
- 16- Hu X., Xu Z., Xu W., Li J., Zhao N., and Zhou, Y. 2015. Application of γ -aminobutyric acid demonstrates a protective role of polyamine and GABA metabolism in muskmelon seedlings under Ca(NO₃)₂ stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 92: 1-10.
- 17- Jalilimarandi R. 2004. *Postharvest Physiology (Handling and storage of fruits, vegetables and ornamental plants)*. Publishers Jihad Urmia University. Second edition, p. 276. [In Farsi]
- 18- Jiang Y., and Huang B. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turf grasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41(2): 436-442.
- 19- Kaijv M., Sheng L., and Chao C. 2006. Antioxidation of flavonoids of Green Rhizome. *Food Science and Technology* 27: 110–115.
- 20- Kathiresan A., Miranda J., Chinnappa C., and Reid DM. 1998. Γ -Aminobutyric acid promotes growth elongation in *Stellaria longipes*: the role of ethylene. *Plant Growth Regulation* 26: 131-137.
- 21- Lafuente M.T., Zacarias L., Martinez-Tellez M.A., Sanchez-Ballesta, M.T., and Granell A. 2003. Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. *Postharvest Biology and Technology* 29(3): 309–318.
- 22- Lu X., Sun D., Li Y., Shi W., and Sun G. 2011. Pre- and post- harvest salicylic acid treatments alleviate internal browning and maintain quality of winter pineapple fruit. *Scientia Horticulturae* 130: 97–101.
- 23- Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science* 7: 405–410.
- 24- Nayyar H., Kaur R., Kaur S., and Singh R. 2014. γ - Aminobutyric acid (GABA) imparts partial protection from heat stress injury to rice seedlings by improving leaf turgor and upregulating osmoprotectans and antioxidants. *Journal Plant Growth Regulation* 33(2): 408-419.
- 25- Pan Y., Wu L., and Yu Z. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice. *Glycyrriza uralensis* Fisch. *Plant Growth Regulation* 301: 564-571.
- 26- Paull R.E. 1990. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin, In: Wang, C. Y. (Ed.), *Chilling injury*

- of horticultural crops. CRC Press, Boca Raton FL, pp. 17–36.
- 27- Shang H., Cao S., Yang Z., Cai Y., and Zheng Y. 2011. Effect of exogenous gamma aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of agricultural and food chemistry* 59(4): 1264–1268.
- 28- Shelp B., Bown A., and McLean M. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. Elsevier. *Trends in plant science*, 446-452.
- 29- Shi S.Q., Shi Z., Jiang Z.P., Qi L.W., Sun X.M., Li C. X. et al. 2010. Effects of exogenous GABA on gene expression of *Caragana intermedia* roots under NaCl stress: Regulatory roles for H₂O₂ and ethylene production. *Plant, Cell and Environment* 33: 149-162.
- 30- Aghdam M.S., Razavi F., and Karamneghad F. 2015. Maintaining the postharvest nutritional quality of peach fruits by γ -Aminobutyric acid. *Journal of Plant Physiology* 5(4): 1457- 1463.
- 31- Tejera N.A., Soussi M., and Lluch C. 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany* 58: 17-24.
- 32- Vijayakumari K., and Puthur T. 2015. γ -aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* L plants subjected to PEG induced stress. *Plant Growth Regulation*, 78: 57-67.
- 33- Wang C.Y., Fan L.Q., Gao H.B., Wu X.L., Li J.R., Lv G.Y., and Gong B.B. 2014a. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 82: 17-26.
- 34- Wang Sh.Y., and Gao H. 2013. Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries *Fragaria arnasa* Duch. *LWT- Food Science and Technology* 52: 71-79.
- 35- Wang Y., Luo Z., and Huang H. 2014b. Effect of exogenous γ -aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae* 168: 132-137.
- 36- Wills R.B.H., and Ku V. 2002. Use of 1- MCP to extend the time to ripen of green tomatoes and postharvest life of ripe tomatoes. *Postharvest Biology and Technology* 26: 85-90.
- 37- Wonsheree T., Kesta S., and Doorn W.G. 2009. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum citriodourum*) leaves. *Postharvest Biology and Technology* 51: 91–96.
- 38- Yadegari L.Z., Heidari R., and Carapetian J. 2007. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MDA), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings. *Journal Biology Science* 7:1436–1441.
- 39- Yang A., Cao S., Yang Z., Cai Y., and Zheng Y. 2011. γ -Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense response of peach fruit. *Food Chemistry* 129(4): 1619-1622.
- 40- Zhao D.Y., Shen L., Fan B., Liu K.L., Yu M., Zheng Y., Ding Y., and Sheng J.P. 2009. Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. *Food Chemistry* 74: 348–352.



Effects of Gamma-aminobutyric Acid Treatment on Postharvest Chilling Injury on Tomato Fruit

M. Moradi¹ - F. Razavi^{2*} - V. Rabiei³ - M. Soleimani Aghdam⁴ - L. Salehi⁵

Received: 02-02-2019

Accepted: 14-09-2019

Introduction: In recent years, γ -aminobutyric acid (GABA), a non-proteinogenic four-carbon signaling amino acid, has been employed as a safe strategy for attenuating chilling injury and fungal decay, delaying senescence and keeping sensory and nutritional quality of fruits and vegetables during postharvest life. In addition to applying GABA as exogenous safe procedure, heightening cellular GABA shunt pathway activity also is pivotal for attenuating chilling injury and fungal decay, delaying senescence and keeping sensory and nutritional quality of fruits and vegetables during postharvest life. Low temperature storage is widely employed for prolonging postharvest life of fruits and vegetables accompanying by keeping sensory and nutritional quality. Tomato is one of the most important horticultural crops, which exhibits higher benefits for human health but being endemic to subtropical climates, they are very vulnerable to chilling injury. Cold storage application is normally employed as a regular low-cost real postharvest technology. Owing to its great socio-economic significance, great efforts have been done by researchers to attenuating chilling injury in tomato fruits during low temperature storage employing safe strategies such as melatonin, brassinosteroids, salicylic acid, nitric oxide, and gibberellic acid. Attenuating chilling injury in tomato fruits by postharvest treatments may attribute to keeping safe membrane integrity representing by lower electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulation occurring by eliciting endogenous polyamines, proline and nitric oxide accumulation by activating CBF1 signaling pathway, hampering phospholipase D (PLD) and lipoxygenase (LOX) enzymes activity, activating reactive oxygen species (ROS) scavenging enzymes activity resulting in higher ascorbic acid and glutathione accumulation, maintaining endogenous GA₃ homeostasis occurring by higher CBF1 signaling pathway concurrent with higher endogenous salicylic acid accumulation, which not only are pivotal for conferring chilling tolerance in tomato fruits but also are crucial for preserving sensory and nutritional quality.

Material and Methods: Tomato fruits (*Solanum lycopersicum* cv. Izmir) were picked at the mature green stage in Zanjan Province, Iran, and transported to the fruit analysis laboratory at Zanjan University. In the laboratory, the fruit was screened for uniform size, maturity, and absence of mechanical damage. Fruits (1440) were divided into four groups, each consisting of 360 fruits. The experiment was done in triplicate in which each replicate consisted of 120 fruits. The exogenous GABA applying was done by immersing of fruits in GABA at 0, 0.1, 1, and 5 mM for 15 min at 20 °C. Then, fruits were air dried at room temperature and stored at 4 ± 0.5 °C (85–90 % RH) for 28 days. After assessment of chilling injury every 7 days during storage at 4 °C followed by shelf life at 25 °C for 3 days, biochemical analyses were performed.

Results and Discussion: In recent experiment, we showed that the exogenous GABA applying, especially at 5 mM, is beneficial for attenuating chilling injury in tomato fruits during storage at 4 °C for 28 days which was associated with higher membrane integrity representing by lower electrolyte leakage and malondialdehyde (MDA) accumulation. Keeping safe membrane integrity in tomato fruits in response to exogenous GABA applying may ascribe to triggering reactive oxygen species (ROS) scavenging catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) enzymes activity giving rise to higher endogenous ascorbic acid accumulation concomitant with promoting phenylpropanoid pathway activity representing by higher phenylalanine ammonia lyase (PAL) enzyme activity giving rise to higher phenols and flavonoids accumulation and superior DPPH scavenging capacity.

1, 2 and 3- M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: razavi.farhang@znu.ac.ir)

4- Assistant Professor, Department of Horticulture, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

5- M.Sc. Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

Conclusion: Therefore, exogenous application of GABA not only is proficient for attenuating chilling injury but also is beneficial for preserving nutritional quality of tomato fruits during storage at 4 °C for 28 days.

Keywords: Antioxidant system, Chilling injury, DPPH scavenging capacity, Membrane integrity, Tomato



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی اثرات غلظت بی کربنات کلسیم بر واکنش فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام

پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15

علی ایمانی^۱ - خسرو پرویزی^{۲*} - حمدالله بیرامی جم^۳ - ابراهیم هادوی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۳۱

چکیده

زردی برگ به دلیل اختلال جذب عناصر غذایی بویژه آهن و در خاک‌های آهکی از مشکلات تغذیه‌ای درختان میوه نظیر بادام می‌باشد. همچنین در شدت و تحمل به اختلال جذب عناصر غذایی مانند آهن بین ارقام بادام پیوند شده روی پایه‌ی GN15 اختلاف وجود دارد. بنابراین به منظور بررسی اثر بی کربنات کلسیم بر خصوصیات فیزیولوژیکی و شاخص‌های رشدی در تعدادی از ارقام بادام، آزمایشی به صورت فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو عامل استفاده از بی کربنات کلسیم به صورت جرم مولی یا مولکول گرم در پنج سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌مول در لیتر) و ارقام بادام در ده سطح شامل ارقام سوپرنووا، ۱-۲۵، ۱۳-۴۰، مامای، ۱۶-۱، کاغذی، سه‌د، ۲۰-۷، پیوند شده بر روی پایه GN15 و همچنین پایه GN15 (عدم انجام پیوند) انجام شد. آزمایش در شرایط گلخانه و به صورت گلدانی اجرا شد. بر اساس نتایج حاصله شاخص کلروفیل، کلروفیل a، b، کارتنوئید برگ‌ها و شاخص‌های رشدی در تمام ارقام کاهش معنی‌دار داشتند ($p \leq 0.05$). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که با افزایش سطح بی کربنات کلسیم، مقدار فلورسانس حداقل کلروفیل افزایش و میزان فلورسانس حداکثر کاهش یافت. در نتیجه نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر از ۰/۸۱ در گیاهان بدون تیمار به ۰/۶۷ در پایه GN15، سوپرنووا و ۲۵-۹ پیوند شده روی پایه GN15 کاهش نشان داد. در مجموع رقم‌های ۲۵-۱ و کاغذی متحمل‌ترین و رقم‌های ۲۵-۹ و سوپرنووا حساس‌ترین رقم‌ها نسبت به افزایش بی کربنات آب آبیاری تشخیص داده شدند.

واژه‌های کلیدی: آهک خاک، پایه بادام، کلروفیل، کلروز، صفات مرفولوژیک

مقدمه

آهن با کلات آهن به طور گسترده در مدیریت تغذیه باغ‌ها انجام می‌شود، اما دارای هزینه‌های بالا و خطرات بالقوه زیست محیطی است. عوامل کلات کننده مختلفی در تولید کودهای کلات آهن استفاده می‌شود که معروف‌ترین آنها شامل اتیلن دی امین تترا استیک اسید (EDTA)، دی اتیلن تری امین پنتا استیک اسید (DTPA) و اتیلن دی امین دی ارتو هیدروکسی فیل استیک اسید (EDDHA) می‌باشند. بنیان‌های کودهای کلات آهن ذکر شده به علت دارا بودن اتیلن به عنوان هورمون رشد، مواد هورمونی محسوب می‌شوند و بنابراین برای محصولات و نیز انسان مضر می‌باشند (۶). علاوه بر این بخشی هر چند ناچیز از ترکیبات کلاته کننده مذکور با نگهداری آهن به عنوان فلز سنگین در ساختمان خود در طولانی مدت تجزیه می‌شوند، بنابراین با بهم زدن تعادل اکولوژیکی عناصر غذایی می‌توانند با مخاطرات زیست محیطی همراه باشند. هرچند امروزه استفاده از نانوکلات‌ها تا حدودی این مشکل را حل کرده است. اما تولید و تهیه نانوکلات به صرف هزینه بیشتری نیاز دارد (۶). چنین محدودیت‌های موجب شده که استراتژی‌های جایگزین برای مدیریت تغذیه آهن با

کلروز در نتیجه به هم خوردن توازن تغذیه‌ای در رشد درختان میوه ایجاد می‌شود که به دلیل محدودیت آهن قابل استفاده گیاه در محیط‌های قلیائی می‌باشد. این وضعیت مشکل بزرگی برای درختان میوه در خاک‌های آهکی کشورمان محسوب می‌شود. کنترل کلروز

۱- دانشیار پژوهشی مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

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

(*) نویسنده مسئول: (Email: k.parvizi@areeo.ac.ir)

۳- کارشناس ارشد بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

۴- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.79027

توجه به پارامترهای خاک و گیاه در نظر گرفته شود. به منظور سرعت بخشیدن به برنامه‌های اصلاحی، باید از روش‌های ارزیابی اولیه در تهیه پایه‌ها و ارقام متحمل به کلروز آهن بهره‌گیری شود. هیبرید هلو بادام (GF 677) به طور گسترده به عنوان پایه رویشی بادام، هلو و شلیل در حوضه مدیریت استفاده می‌شود که علاوه بر مقاومت به خشکی، تحمل زیادی به کلروز آهن دارد. معمولاً مقدار آهن قابل جذب در گیاهان با مقدار کربنات کلسیم و یون بی‌کربنات موجود در خاک ارتباط مستقیم دارد (۱۵). در آزمایشی گلدانی با خاک قلیایی بر روی نهال‌های درختان غیر پیوندی به و گلابی پیوند شده روی پایه رویشی AB29 با محلول غذایی حاوی آهن و فاقد آن، میزان جذب آهن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ارزیابی شش هفته پس از اعمال تیمار نشان داد که نهال گلابی پیوند شده روی پایه رویشی به، تحمل بیشتری نسبت به فقر آهن داشته و برگ‌های درختان غیر پیوندی به و تیمار شده با محلول غذایی فاقد آهن، از میزان جذب آهن کمتری برخوردار شدند (۲۵). همچنین با مطالعه‌ی دیگری که به بررسی اثر کمبود آهن بر عملکرد و کیفیت میوه در دو رقم هلو پوسر زرد و هلو پوسر قرمز انجام گرفته بود، مشخص شد که در هر دو رقم کمبود آهن باعث کاهش وزن و تعداد میوه شده و میوه‌ها اندازه کوچک‌تری داشتند (۱). در پژوهش سرچیو و همکاران (۲۶) میزان فعالیت آنزیمی FC-R و همچنین شاخص کلروفیل (SPAD) هلو پیوند شده بر روی پایه رویشی آلو در شرایط خاک آهکی و در محیط کشت هیدروپونیک با محلول غذایی رقیق شده (نیم غلظت هوگلند) و پس از چهار روز انتقال به محلول کلات آهن ۱۸۰ میلی مول در لیتر، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیمی FC-R برای همه تیمارها در شرایط درون بدنی^۱ بعد از عرضه مجدد آهن ۱۸۰ میلی مول در ژنوتیپ‌های، Kymask68، PAC9921 ، AdesotoPVP، FelinempVP و GF677 نسبت به شاهد بالاتر بودند. در مجموع پایه‌های رویشی که القاء فعالیت FC-R بالاتری داشتند، دارای میزان شاخص کلروفیل (SPAD) بالاتری بودند. در پژوهش دیگری با ارزیابی میزان کلروفیل a و b در انگور رقم "Chardony" پیوند شده روی پایه‌های رویشی با گلدان‌های برخوردار از خاک آهکی، معلوم شد که مهمترین عامل برای ایجاد کلروز در انگور، غلظت بی‌کربنات در محلول خاک می‌باشد که سبب حلالیت کم آهن در خاک می‌گردد (۷). در پژوهش کامبرول و همکاران (۵) اثرات طیف وسیعی از محتوای کربنات کلسیم خاک (صفر تا ۶۰ درصد) بر رشد گیاه و عملکرد فتوسنتز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مشخص کرد که بالاترین غلظت آهک خاک سبب کاهش عملکرد فتوسنتز تا حد ۲۰ درصد و در نتیجه کاهش شدید در رشد گیاهان گردید (۵). در پژوهش مرال و همکاران (۲۳) آن اثر

سطوح مختلف آهن بر رشد و فتوسنتز قلمه جوانه‌دار نارنگی Murcott پیوند شده روی پایه رویشی با شرایط pH بالا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که بین علائم کلروز آهن، غلظت کلروفیل برگ، شاخص کلروفیل (SPAD) و کلروز بین تیمارها و پایه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. گیاهان شاهد، بیشترین سطح برگ را تولید کردند در حالی که گیاهان رشد کرده در شرایط فاقد آهن، کمترین میزان سطح برگ را داشتند.

در منابع مختلف درخت بادام به عنوان گیاه مقاوم به کلروز معرفی شده است، اما استفاده از پایه‌های هیبرید هلو بادام مثل GF677 و GN15 نشان می‌دهد که تحمل درخت بادام به کلروز روی پایه‌های مختلف، متفاوت می‌باشد (۳). پیوند تکنیکی است که ممکن است در تحمل درختان میوه نسبت به کلروز ناشی از کمبود آهن اثر بگذارد (۲۵). لذا این تحقیق به منظور بررسی اثر بی‌کربنات کلسیم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ارقام انتخابی بادام بر روی پایه GN15 انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ به منظور ارزیابی مقاومت به بی‌کربنات کلسیم و میزان کلروز ایجاد شده در ارقام انتخابی بادام روی پایه رویشی GN15 (هیبرید هلو و بادام) به صورت آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه انجام گرفت. فاکتور اول با عامل بی‌کربنات کلسیم به صورت جرم مولی (مولکول گرم) در پنج سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی مول در لیتر) و فاکتور دوم شامل ارقام بادام در ده سطح (سوپرنووا، ۱-۲۵، ۱۳-۴۰، مامایی، ۱-۱۶، کاغذی، سه‌پند، ۲۰۰-۷-۹ پیوند شده بر روی پایه GN15 و همچنین پایه GN15 (عدم انجام پیوند)) بود. هر واحد آزمایش شامل یک گلدان که پایه مورد نظر در آن کشت گردید. برای اجرای این آزمایش در بهار ابتدا ارقام بادام و پایه‌های رویشی GN15 ریشه‌دار شده در گلدان‌های پلاستیکی به تعداد ۱۵۰ عدد و به ابعاد ۳۰ در ۴۵ سانتی‌متر که ترکیب بستر گلدان‌ها شامل پرلیت (۵۰ درصد) و کوکوپیت (۵۰ درصد) بود، کشت شدند. اندازه‌گیری pH بستر کاشت با استفاده از دستگاه pH سنج (Ph HANNA 209) و EC با استفاده از EC سنج (EC215، HANNA) انجام شد. میزان pH بسترهای کاشت ۶/۸ و EC آن‌ها ۰/۴۶ دسی‌زیمنس بر متر بود. برای خروج آب اضافی و جمع‌آوری زه آب، کف سطل‌ها سوراخ شده و یک لایه شن درشت در کف سطل‌ها ریخته شده و مابقی حجم سطل‌ها با بستر مورد نظر پر شدند. پس از اینکه پایه‌ها ۸ تا ۱۰ برگه شده و به قطر حدود ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر رسیدند، عملیات پیوند جوانه و به شکل T بر روی آن‌ها انجام شد. جهت انجام پیوند جوانه‌های قوی‌تر و از پیوندک‌های با قطر شاخه

۱۰۰ میلی‌لیتر از غلظت‌های تهیه شده از تیمارهای مورد نظر به هر گلدان اضافه شد (۹). غلظت بی‌کربنات موجود در آب شهری قبل از آبیاری محاسبه و تهیه غلظت‌ها بر اساس آن لحاظ گردید. برای تعیین خصوصیات شیمیایی آب مورد استفاده نیز قبل از اعمال تیمارهای بی‌کربنات کلسیم، از آب، نمونه تهیه شده و در آزمایشگاه تجزیه گردید (جدول ۱). در طول فصل رویشی دو نوبت زه‌آب مربوط به هر تیمار جمع‌آوری و در آزمایشگاه pH، غلظت کربنات و بی‌کربنات موجود در هر نمونه تعیین گردید (جدول ۲).

حدود ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر انتخاب شدند. بلافاصله پس از پیوند سربرداری صورت گرفت. پس از اینکه رشد پیوندک‌ها به ۱۰ تا ۱۲ سانتی‌متر رسید، اعمال تیمار بی‌کربنات کلسیم آغاز شد. برای اعمال تیمارهای بی‌کربنات، بی‌کربنات کلسیم ساخت شرکت مرک آلمان با درصد خلوص ۹۰ درصد خریداری شده بود، به ترتیب به میزان ۱/۶۲، ۳/۲۴، ۴/۸۶ و ۶/۴۸ گرم بی‌کربنات کلسیم $(Ca(HCO_3)_2)$ در لیتر به‌علاوه ۱۰ درصد کسری خلوص ماده شیمیایی فوق تهیه گردیده و به گلدان‌ها به مدت ۹۰ روز و در هر نوبت آبیاری (دوره ۱۰ روزه) مقدار

جدول ۱- نتایج تجزیه شیمیایی آب مورد استفاده

Table 1- Chemical analysis results of used water

عناصر Minerals	K	P	Na	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	pH	EC (dS/m)
غلظت Concentration (mg L ⁻¹)	4.1	0/08	41	38	15	0.3	0.03	1.3	0	25	52	7.2	0.52

جدول ۲- مقادیر بی‌کربنات کلسیم و واکنش pH خاک در گلدان‌ها پس از اعمال تیمار

Table 2- Calcium bicarbonate and soil pH reaction in the pots after treatment

بی‌کربنات کلسیم Calcium bicarbonate Ca(HCO ₃) ₂ (g L ⁻¹)	بی‌کربنات Bicarbonate (mM L ⁻¹)	واکنش خاک pH pH (Soil reaction)
0 (control) شاهد	0	7.4
1.62	10	7.55
3.24	20	7.65
4.86	30	7.9
6.48	40	8.8

(۲) محاسبه گردید.

اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل: برای اندازه‌گیری پارامترهای فلورسانس کلروفیل در هر گیاه، نمونه‌گیری از برگ‌های بالایی شاخه سال‌جاری (برگ‌های توسعه یافته از گره‌های ۴ و ۵) انجام شد. ابتدا گیره‌های اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل به برگ‌ها وصل شد طوری که قسمتی از برگ به مدت ۲۵ تا ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فلورسانس مقدار Fo و Fm قرائت شدند. مقدار Fv از تفاضل Fm و Fo محاسبه شد. مقدار Fv/Fm از رابطه $(Fm-Fo/Fm)$ استفاده گردید (۳).

اندازه‌گیری صفات مرفولوژیک: در انتهای فصل رشد و پس از پایان دوره رشد، میزان رشد طولی و قطری شاخه سال‌جاری و طول و عرض برگ هر یک از ارقام بادام بر روی پایه‌ها در تیمارهای مختلف بی‌کربنات اندازه‌گیری و یادداشت برداری شد. طول و عرض برگ توسط خط‌کش، رشد قطری بوسیله کولیس و رشد طولی تنه آن‌ها توسط متر اندازه‌گیری شدند.

شاخص کلروفیل: پس از اعمال تیمارها در دو مرحله به فواصل ۳۰ و ۹۰ روز، شاخص کلروفیل برگ‌های شاخه اصلی پیوندک‌ها با استفاده دستگاه کلروفیل متر مدل SPAD 502 Minolota اندازه‌گیری شد. بدین منظور از هر واحد آزمایشی شش برگ در موقعیت یک سوم بالائی نهال، انتخاب و از قسمت وسط برگ اندازه‌گیری صورت گرفت (۲۸).

اندازه‌گیری کلروفیل‌های a، b و کارتنوئید: به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل‌های a، b و کارتنوئید، برگ‌ها، مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ‌های بالائی شاخه اصلی توزین و در هاون چینی ریخته سپس نمونه‌های گیاهی با استفاده از نیتروژن مایع خرد شده و توده یکنواختی بدست آمد. ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه‌ها اضافه شده و سپس محلول حاصل با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مقداری از نمونه داخل بالن در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و مقدار جذب در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (کلروفیل a)، ۶۵۴ نانومتر (کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (کارتنوئید) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR2000) قرائت شد. میزان کلروفیل a، b و کارتنوئید بر حسب میلی‌گرم بر گرم از روش آرنون

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر غلظت بی کربرات کلسیم و نوع پایه بر برخی شاخص های رشد و فیزیولوژیک ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Table 3- ANOVA for the effect of calcium bicarbonate concentration and rootstock type on some growth and physiological indices of almond cultivars grafted on GN15

roofstock									
میانگین مربعات Mean of squares									
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Cartenoid	شاخص کلروفیل Spad	فلورسانس حداقل Fluorescence min (Fo)	فلورسانس حداکثر Fluorescence max (Fm)	فلورسانس متغیر Fluorescence Variable (Fv)	فلورسانس متغیر به حداکثر Fv/Fm
بی کربنات Bicarbonate	4	0.333**	0.380 **	.038 **	193.85 **	1435.95 **	1157.79 **	387.05**	0.17 **
رقم Cultivar	9	0.2120 **	0.036 **	0.031 **	400.43 **	542.18 **	1242.051 **	946.3 **	0.001 **
رقم × بی کربنات Bicarbonate×Cultivar	36	0.006 **	0.008 ns	0.001 ns	6.07 *	13.18 ns	5497.41 ns	2853.2ns	0.0005 ns
خطا Error	98	0.005	0.003	0.006	1.61	30.85	1375.8	1147.4	0.0003
ضریب تغییرات C.V.(%)		2.90	3.3	6.19	3.01	2.58	3.89	3.56	2.35

** و * به ترتیب بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۱ و ۵ درصد، ns: نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد.
** and *: significant at 1 and 5 of probability level, respectively). ns: no significant.

ادامه جدول ۳ - تجزیه واریانس تاثیر غلظت بی کربنات کلسیم و نوع پایه بر برخی شاخص های رشد و فیزیولوژیک ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Continued Table 3- ANOVA for the effect of calcium bicarbonate concentration and rootstock type on some growth and physiological indices of almond cultivars grafted on GN15 rootstock

منابع تغییرات S. O. V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean of squares				
		ارتفاع دانتهال Seedling height	ارتفاع شاخه سال جاری Current branch height	قطر شاخه سال جاری Current branch diameter	عرض برگ Leaf width	طول برگ Leaf length
بی کربنات Bicarbonate	4	109.47 **	121.966 **	0.907 **	3.097 **	8.12 **
رقم Cultivar	9	13.45 **	992.22 **	0.280 **	0.084 *	1.31 **
رقم × بی کربنات Bicarbonate × Cultivar	36	1.43 **	737.6 **	0.09 ns	0.05 ns	0.11 **
خطا Error	98	0.64	240.0	0.047	0.009	0.015
ضریب تغییرات C. V (%)		12.12	6.8	10.63	10.38	5.99

** و *: به ترتیب بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. ns: نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد.
** and *: significant at 1% and 5% of probability level respectively. ns: no significant.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس مشخص شد که اثرات بی کربنات کلسیم، رقم و همچنین اثرات متقابل آن‌ها بر محتوی کلروفیل a و b معنی‌دار شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محتوی کلروفیل a و b طی دوره اعمال تیمار، با افزایش غلظت بی کربنات کلسیم در آب آبیاری، در تمامی ارقام به نسبت مختلف کاهش یافت کمترین میزان کاهش کلروفیل a و b در برگ‌های ارقام کاغذی، مامائی، ۱-۲۵ و ۱۳-۴۰ و بیشترین کاهش در ارقام سوپر نوا، ۹-۷ و پایه GN15 مشاهده شد (جدول ۳).

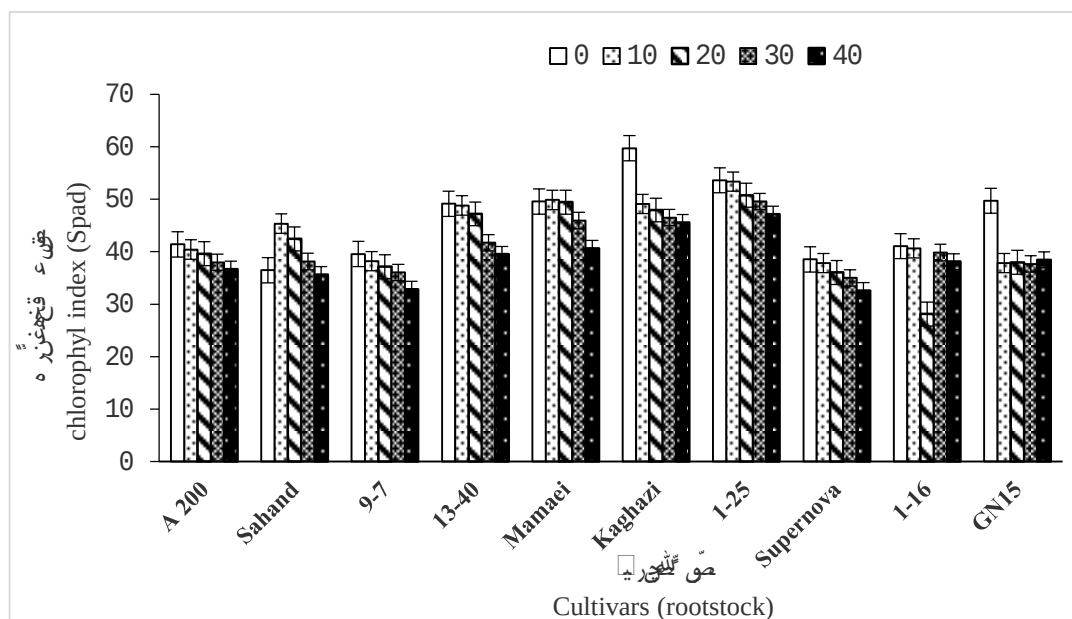
درباره دلایل کاهش میزان کلروفیل برگ با افزایش بی کربنات می‌توان به اختلال در جذب آهن و غیرفعال شدن آن و نقش آهن در سنتز کلروفیل اشاره کرد. این نتایج حاکی از آن است که میزان کلروفیل b به مقدار بیشتری از کلروفیل a تحت اثر تیمار بی کربنات کلسیم کاهش می‌یابد. توانایی گیاهان به کاهش میزان کلروفیل در حد محدود، می‌تواند حالتی از خوگیری گیاهان به تنش باشد چرا که در تنش‌های شدید، امکان آسیب بیشتر به دستگاه فتوسنتزی با تشکیل بیشتر رادیکال‌های آزاد اکسیژن فراهم می‌گردد (۱۴). دسترسی نداشتن گیاه به عنصر آهن به ساخت کلروفیل صدمه می‌زند (۸). کاهش غلظت کلروفیل، قدرت رشد و مقاومت به تنش را در گیاه کاهش می‌دهد (۳۱). اما تفاوت در میزان کاهش کلروفیل در سطوح مختلف بی کربنات در ارقام مختلف می‌تواند ناشی از ظرفیت این ارقام در تحمل به سطوح بالاتر بی کربنات و امکان سنتز پروتئین‌های کلروپلاست سلول‌های برگ حتی با کمبود نسبی آهن باشد (۱۸). تفاوت در واکنش ارقام مختلف به سنتز کلروفیل در سطوح مختلف بی کربنات در این آزمایش با نتایج منظری توکلی و همکاران (۲۰) مطابقت دارد.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان کارتنوئید به صورت معنی‌داری تحت تاثیر سطوح بی کربنات و رقم قرار گرفت اما اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان کارتنوئید معنی‌دار نشد (جدول ۳). با مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) مشخص شد در تمامی ارقام و همچنین پایه GN15 با افزایش غلظت بی کربنات کلسیم، میزان کارتنوئید کاهش یافت. کمترین میزان کاهش کارتنوئید در تیمار بدون بی کربنات و بیشترین میزان کاهش کارتنوئید در بالاترین سطح بی کربنات (۴۰ میلی مول در لیتر) مشاهده شد. همچنین تفاوت قابل توجهی بین ارقام و پایه‌ها در میزان کارتنوئید برگ ایجاد شد. به نحوی که در برگ‌های ارقام سوپر نوا، ۹-۷ و پایه GN15 به ترتیب بیشترین میزان کاهش کارتنوئید و در رقم‌های، کاغذی، ۱-۲۵، مامائی و ۱۳-۴۰ کمترین میزان کاهش کارتنوئید مشاهده شد. کارتنوئیدها از مهمترین رنگدانه‌های فتوسنتز هستند. pH بالا ناشی از

تنش قلیائیت سبب تخریب کلروپلاست و کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاهان می‌شود. تحت شرایط بی کربنات، کاهش غلظت آهن برگ سبب کاهش کلروفیل و کارتنوئید می‌شود (۱۹). همچنین مشخص شده است که غلظت بهینه آهن در برگ برای فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ضروری می‌باشد و کمبود آهن موجب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شده و همزمان با آن افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه تغییر در زنجیره انتقال الکترون موجب خسارت به کلروپلاست، کاهش کلروفیل و کاهش سنتز کارتنوئیدها می‌شود (۱۸). کاهش میزان کارتنوئید با سطوح بالای بیکربنات در پژوهش با نتایج مومن پور و همکاران (۲۴) مطابقت دارد.

نتایج آزمایش نشان داد که اثر بی کربنات، اثر رقم و اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان شاخص کلروفیل در برگ‌های ارقام بادام معنی‌دار شد (جدول ۳). میزان شاخص کلروفیل با افزایش سطوح بی کربنات در آب آبیاری کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش میزان شاخص کلروفیل در تیمار ۴۰ مول در لیتر مشاهده شد. میزان کاهش شاخص کلروفیل در بین برگ‌های ارقام مورد مطالعه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشت به طوری که بیشترین میزان کاهش شاخص کلروفیل در برگ‌های واریته ۹-۷، سوپر نوا، ۱۶-۱ و پایه GN15، و کمترین میزان کاهش آن به ترتیب در کاغذی و ژنوتیپ‌های ۱-۲۵، ۱۳-۴۰ و مامائی مشاهده شد (شکل ۱). نتایج این پژوهش در واکنش متفاوت پایه‌های پیوندی در سطوح مختلف بیکربنات به میزان شاخص کلروفیل با پژوهش‌های مرال و همکاران (۲۳) همخوانی دارد.

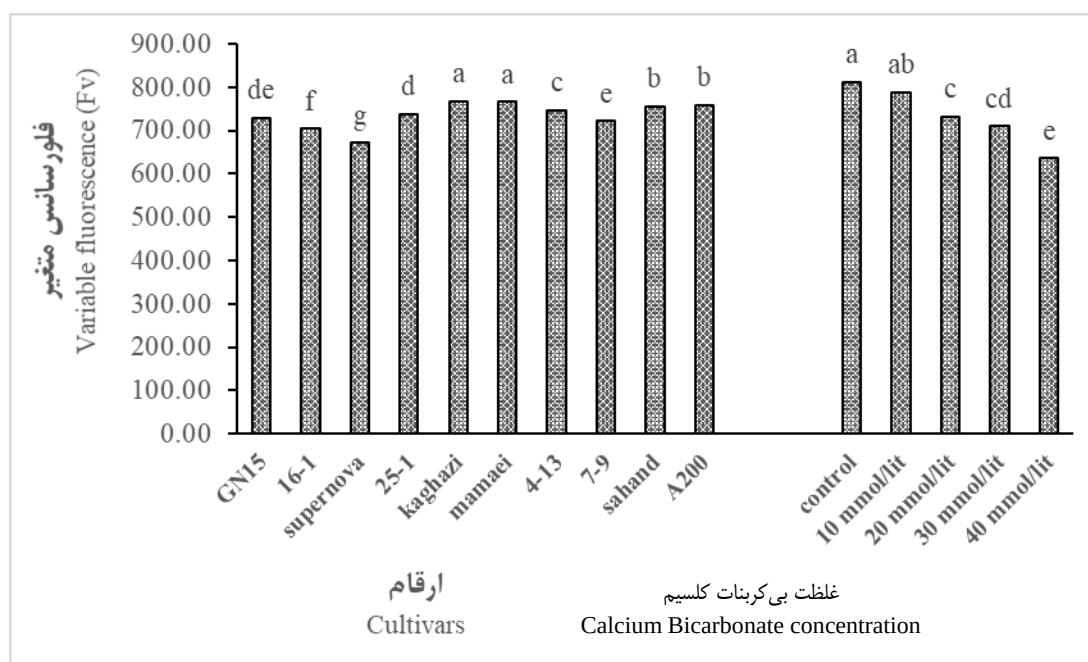
تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح بی کربنات کلسیم و رقم بر میزان فلورسانس حداقل (Fo) و حداکثر (Fm) و همچنین فلورسانس متغیر در برگ‌های بادام معنی‌دار شده است. اما اثر متقابل رقم و سطوح بی کربنات بر این صفات معنی‌دار نشده است (جدول ۳). بیشترین افزایش میزان فلورسانس حداقل، در تمامی ارقام در تیمار ۴۰ میلی مول بر لیتر، کمترین میزان کاهش فلورسانس حداکثر برگ و بیشترین میزان کاهش فلورسانس حداکثر برگ، به ترتیب در تیمار بدون بی کربنات کلسیم و بالاترین سطح بی کربنات ۴۰ میلی‌مول در لیتر مشاهده شد (جدول ۴). مقایسه میانگین این صفات نشان می‌دهد که در سطوح مختلف اعمال تیمار بی کربنات، از نظر میزان فلورسانس حداقل و حداکثر در برگ‌های ارقام اختلاف معنی‌داری وجود دارد. به نحوی که کمترین میزان افزایش فلورسانس حداقل به ترتیب، در برگ‌های گیاهان بدون تیمار، رقم‌های مامائی، کاغذی و ژنوتیپ ۲۵-۱ و بیشترین میزان آن، در برگ‌های پایه GN15، رقم سوپر نوا، ژنوتیپ ۹-۷ و ۱۳-۴۰ که تحت تیمار ۴۰ میلی مول بر لیتر بی کربنات کلسیم مشاهده شد.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × غلظت بی کربنات بر شاخص کلروفیل ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 1- The interaction effect of cultivar × bicarbonate concentration on chlorophyll index of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)

کاهش سطح آهن محلول غذایی، میزان فلورسانس حداکثر کلروفیل کاهش و فلورسانس حداقل افزایش یافت (۲۲). نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر بی کربنات کلسیم و همچنین اثر رقم بر شاخص Fv/Fm کلروفیل برگ‌ها معنی‌دار شد (جدول ۳). با افزایش غلظت بی کربنات کلسیم میزان شاخص Fv/Fm کلروفیل در برگ‌های واریته‌ها و ژنوتیپ‌های بررسی شده کاهش یافت (جدول ۴). بیشترین میزان شاخص Fv/Fm کلروفیل در رقم کاغذی و ۱-۲۵ و با غلظت ۲۰ مول در لیتر، و کمترین میزان دامنه فلورسانس متغیر در برگ‌های ارقام به ترتیب، سوپرنوا، پایه GN15 و ژنوتیپ ۹-۷ و با غلظت ۴۰ میلی‌مول بر لیتر بی کربنات مشاهده شد. شاخص Fv/Fm کلروفیل، در برگ‌های گیاهان شاهد ارقام بررسی شده در حدود ۰/۷۹ تا ۰/۷۶ بود که نشان دهنده وجود شرایط محیطی ایده آل و فاقد تنش برای رشد تمامی ارقام در کل دوره آزمایش بود. در بسیاری از گونه‌های گیاهی زمانی که شاخص Fv/Fm در حد ۰/۷۹ باشد، به این مفهوم است که تنشی بر گیاه وارد نشده است و لذا مقادیر کمتر، حاکی از وجود تنش در گیاهان است.

همچنین کمترین میزان فلورسانس حداکثر، در رقم سوپرنوا، پایه GN-15، ژنوتیپ ۹-۷ و ۱-۱۶ و بیشترین میزان فلورسانس حداکثر در ارقام مامائی، کاغذی و ژنوتیپ ۱-۲۵ مشاهده شد (جدول ۴). دو رقم کاغذی و مامائی به ترتیب با ۷۶۷/۸ و ۷۶۶/۴ از بیشترین میزان فلورسانس متغیر برخوردار شدند که نسبت به سایر ارقام تفاوت معنی‌دار نشان دادند. کمترین میزان فلورسانس متغیر (متوسط ۶۷۱) با رقم سوپرنوا حاصل شد و از این نظر با سایر ارقام تفاوت معنی‌دار داشت. بیشترین میزان فلورسانس متغیر در دو تیمار شاهد (عدم استفاده از بیکربنات کلسیم) و با کاربرد ۱۰ میلی‌مول در لیتر بی کربنات کلسیم حاصل شد که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار ایجاد شد. کمترین میزان فلورسانس متغیر با متوسط ۶۳۶/۹ در تیمار ۴۰ میلی‌مول در لیتر بی کربنات کلسیم ایجاد شد و از این حیث اختلاف معنی‌دار با سطوح دیگر بی کربنات و نیز تیمار شاهد داشت (شکل ۲). فلورسانس کلروفیل یکی از راه‌های مصرف انرژی برانگیختگی در فتوسنتز است که به طور گسترده‌ای در پژوهش‌های فتوسنتز به کار گرفته می‌شود. همچنین فلورسانس کلروفیل برای تعیین وضعیت فیزیولوژی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی استفاده می‌شود (۱۳). در تحقیقی مشابه که در آن واکنش های پایه‌های رویشی مرکبات به کمبود آهن که رشد یافته در محلول غذایی با سطوح مختلف آهن در شرایط خاک آهکی مورد ارزیابی قرار گرفت، وضعیتی مشابه با پژوهش حاضر حاصل شد، به طوری که با



شکل ۲- اثرات اصلی رقم و غلظت بی کربنات بر میزان فلورسانس متغیر ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 2- The effects of cultivar and bicarbonate concentration on variable fluorescence (Fv) of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)

پایه‌های مورد بررسی نیز متفاوت بوده است. به طوری که بیشترین میزان کاهش رشد ارتفاع و قطر در رقم‌های سوپرنوا، ۷-۹ و پایه GN15 و کمترین میزان کاهش رشد در ارقام کاغذی، ژنوتیپ‌های ۱-۲۵ و ۱۳-۴۰ مشاهده شد. همچنین مشخص شد که قطر شاخه سال جاری در رقم‌های کاغذی، ۱-۲۵ و ۱۳-۴۰ تفاوت بارزی از هم نداشتند (شکل ۳ و ۴). بی کربنات بالا با غیر فعال کردن و کاهش جذب آهن به طور غیر مستقیم موجب کاهش سنتز DNA، تقسیم سلولی و در نتیجه کاهش رشد سلول‌ها و زیست توده گیاهی می‌شود (۲۱). همچنین بیکربنات از طریق افزایش pH شیره سلولی در درون آوندها سبب رسوب و غیرفعال شدن برخی از عناصر غذایی نظیر آهن و روی در گیاه می‌گردد. از طرفی روی به طور مستقیم در سنتز تریپتوفان که پیشساز سنتز اکسین است، تأثیرگذار می‌باشد. بی کربنات بالا با کاهش جذب روی به طور غیر مستقیم موجب پائین آوردن سطوح اکسین داخلی در گیاه شده و نتیجه این فرآیند اختلال در رشد و در نهایت کاهش محصول می‌باشد (ملکوئی و همکاران، ۱۳۸۲). با پژوهشی ایمانی و همکاران (۱۰) اثر سطوح بیکربنات کلسیم بالا در محلول غذایی (۷/۵ و ۱۵ میلی مول) بر کاهش صفات رشدی پایه‌های رویشی سیب مورد تأیید قرار گرفت که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. همچنین نتایج حاصله از این تحقیق در واکنش متفاوت پایه‌ها به اثرات بیکربنات بر کاهش ارتفاع و قطر شاخه جاری در بادام با نتایج پژوهش قاسمی و همکاران (۱۱)

شاخص F_v/F_m در برگ سازگار شده به تاریکی، نشان دهنده حداکثر کارایی کوانتوم فتوسنتز می‌باشد و به طور گسترده‌ای برای نشان دادن اختلال ایجاد شده در مراکز فیتوشیمیایی در اثر تنش استفاده می‌شود (۳۰). تحقیقات نشان داده است که همبستگی بالایی بین توقف فتوسنتز و کاهش میزان F_v/F_m وجود دارد، لذا نسبت F_v/F_m به عنوان شاخص مناسبی برای نشان دادن بازدارندگی نوری مد نظر قرار می‌گیرد (۴). نسبت F_v/F_m بیشترین کارایی کوانتومی فتوسنتز II برای تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی را نشان می‌دهد. گزارش‌های کمی درباره اثر تنش قلیائیت بر روی فتوسنتز، مخصوصاً کلروفیل فلورسانس وجود دارد (۱۷). با وجود این، بازداشتن فتوسنتز و به تأخیر انداختن رشد گیاه بر اثر تنش قلیائیت در برخی پژوهش‌ها گزارش شده است (۳۲). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج بدست آمده منطقی توکلی و همکاران (۲۰) و همچنین دونینی و همکاران (۹) مطابقت دارد.

با تجزیه واریانس داده‌ها مشخص شد که اثرات رقم و سطوح بی کربنات بر میزان ارتفاع و قطر شاخه سال جاری و همچنین قطر تنه نهال معنی‌دار شد. اثر متقابل رقم و بی کربنات در ارتفاع شاخه سال جاری معنی‌دار شد. اما تأثیر معنی‌داری در اثر متقابل رقم و سطوح بی کربنات بر قطر شاخه سال جاری ایجاد نشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بی کربنات سبب کاهش رشد و ارتفاع و همچنین قطر شاخه سال جاری می‌شود. ضمن اینکه واکنش

مطابقت دارد.

معنی‌داری داشت، به نحوی که کمترین میزان کاهش طول و عرض برگ در رقم‌های کاغذی، مامائی و ۱-۲۵ و بیشترین کاهش سطح برگ در ارقام سوپرنوا، ۷-۹ و پایه GN15 مشاهده شد (شکل ۵ و ۶). یکی از خصوصیات مهم برای ارزیابی رشد و نمو گیاه در شرایط تنش سطح برگ می‌باشد. برگ‌ها محل اصلی انجام فتوسنتز و تامین کننده مواد آلی می‌باشند (۳۳). در خاک‌های آهکی به دلیل کاهش مقدار کافی آهن در سیمپلاست، رشد برگ کاهش می‌یابد (۱۲). اثرات مشخص بیکربنات بالا در کاهش رشد برگ در ارقام بادام و واکنش متفاوت پایه‌های بادام در این پژوهش با بررسی‌های انجام گرفته توسط تدین و همکاران (۲۷) در پرتقال و همچنین واهوم و گریتر (۲۹) در زیتون و هلو شده مطابقت دارد.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر بی‌کربنات کلسیم و رقم بر طول و عرض پهنک برگ معنی‌دار شده است. در حالی‌که اثر متقابل بین رقم و بی‌کربنات صرفاً بر طول پهنک برگ معنی‌دار گردید و در عرض پهنک برگ تفاوت معنی‌داری ایجاد نشد (جدول ۳). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که اندازه طول و عرض پهنک برگ در تمامی ارقام مورد مطالعه با افزایش غلظت بی‌کربنات کلسیم در آب آبیاری، کاهش یافت. بیشترین طول و عرض برگ در تیمار بدون بی‌کربنات کلسیم و کمترین طول و عرض برگ در بالاترین سطح بی‌کربنات (۴۰ میلی‌مول در لیتر) مشاهده شد. همچنین میزان کاهش طول و عرض برگ در ارقام پیوندی با یکدیگر اختلاف

جدول ۴- اثر متقابل رقم × غلظت بی‌کربنات بر خصوصیات فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Table 4- The interaction effect of cultivar × bicarbonate concentration on physiological characteristics and growth traits of almond cultivars grafted on GN15 rootstock

رقم	بی‌کربنات کلسیم	a کلروفیل	b کلروفیل	کارتنوئید	فلورسانس حداقل	فلورسانس حداکثر	Fv/Fm
Cultivar	Calcium bicarbonate	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotenoid	Fluorescence min	Fluorescence max	
A 200	0	0.936 ab	0.869 a	0.448 c-e	207 o-t	1025 a-c	0.977 b-e
	10	0.924 a-d	0.708 d-g	0.458 b-d	210 k-s	999 a-g	0.847 a
	20	0.900 a-h	0.587 lm	0.437 c-g	216 f-o	979 b-j	0.779 b-l
	30	0.810 k	0.573 q	0.375 k-p	220 d-i	952 f-n	0.769 e-n
	40	0.703 op	0.486 q-s	0.318qr	223 c-g	913 l-o	0.754 l-o
سه‌دند Sahand	0	0.919 a-d	0.758 ab	0.451 c-e	205 p-u	1031 ab	0.800 b-d
	10	0.912 a-f	0.727 bcd	0.422 e-g	207 o-t	1001 a-g	0.792 b-g
	20	0.789 e-i	0.647 k	0.395 h-m	210 k-s	969 d-l	0.782 b-l
	30	0.818 jk	0.506 q	0.395 h-m	214 h-p	937 h-o	0.771 d-n
	40	0.662 q	0.468 r-t	0.390 h-n	220 d-i	898 n-p	0.754 l-o
9-7	0	0.910 a-g	0.696 e-g	0.364 l-p	204 q-v	1027 a-c	0.800 bc
	10	0.903 a-h	0.659 h-k	0.369 k-p	207 n-t	1001 a-g	0.792 b-g
	20	0.808 k	0.583 lm	0.348 o-q	212 i-q	961 d-m	0.778 b-m
	30	0.729 mno	0.495 qr	0.348 o-q	220 d-i	898 n-p	0.754 l-o
	40	0.554 r	0.373 k	0.277 st	227 a-e	793 q-r	0.721 pq
13-40	0	0.917 a-e	0.748 a-c	0.437 c-g	215 h-o	1014 a-e	0.787 b-i
	10	0.937 a	0.723 c-e	0.453 c-e	219 e-j	1003 a-g	0.780 b-l
	20	0.885 d-i	0.708 d-g	0.444 c-f	224 a-f	975 b-k	0.769 e-n
	30	0.814 k	0.649 jk	0.400 g-l	228 a-d	948 g-n	0.758 i-o
	40	0.761 lm	0.546 o	0.338 p-r	232 ab	917 k-o	0.745 m-o
مامائی Mamaei	0	0.915 a-e	0.638 k	0.438 c-g	196 v	1007 a-g	0.805 b
	10	0.910 a-g	0.633 h-k	0.451 c-e	189 uv	988 a-h	0.799 b-d
	20	0.870 hi	0.678 g-j	0.420 e-j	201 t-v	986 a-i	0.796 b-e
	30	0.809 k	0.457 s-u	0.368 k-p	202 s-v	949 g-n	0.787 b-i
	40	0.721 nop	0.409 vw	0.339 rs	209 l-t	899 n-p	0.766 f-n

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد

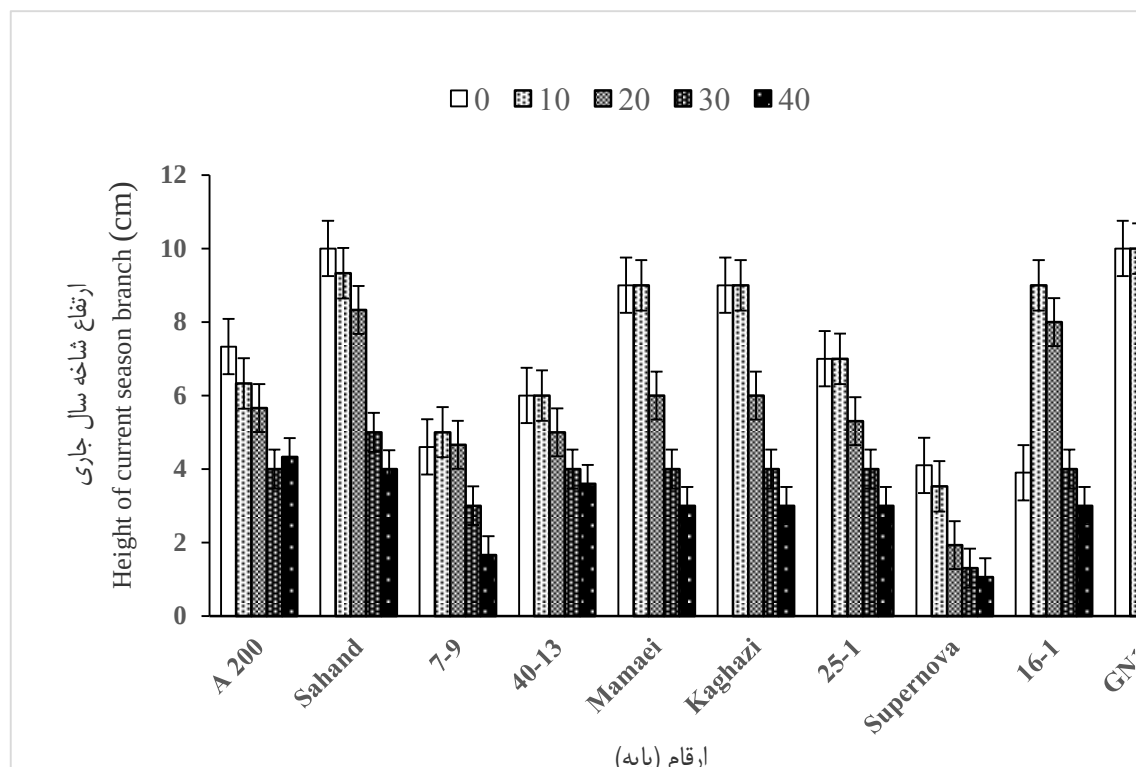
The same letters in each column indicate no significant difference between the numbers at 5% of probability level using Duncan's Multiple Range Test

ادامه جدول ۴- اثر متقابل رقم × غلظت بی کربنات بر خصوصیات فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Continued Table 4- Theeffect of cultivar and bicarbonate concentration on physiological characteristics and growth traits of
of almond cultivars grafted on GN15 rootstock

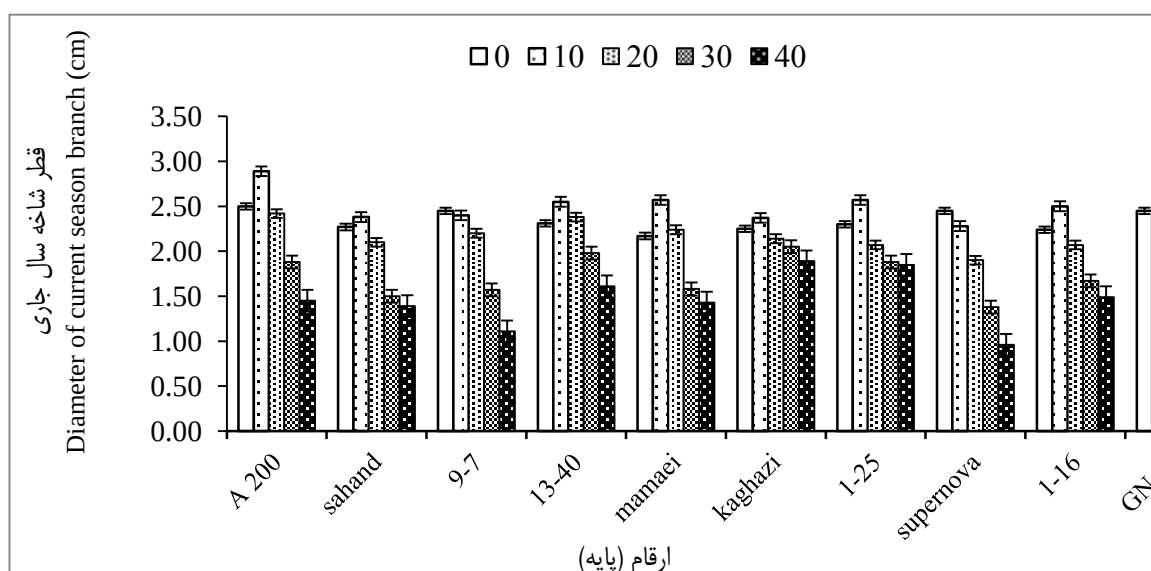
رقم Cultivar	بی کربنات کلسیم Calcium bicarbonate	aکلروفیل Chlorophyll a	bکلروفیل Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	فلورسانس حداقل Fluorescence min	فلورسانس حداکثر Fluorescenc max	Fv/Fm
کاغذی Kaghazi	0	0.891 c-i	0.595 lm	0.497 ab	203 r-v	1011 a-f	0.798 b-e
	10	0.880 e-i	0.566 m-o	0.499 a	206 q-v	1000 a-g	0.793 b-g
	20	0.856 ij	0.545 op	0.502 a	213 i-q	989 a-h	0.784 b-k
	30	0.868 hi	0.512 q	0.505 a	215 g-o	968 c-l	0.777 b-m
	40	0.797 lm	0.515 pq	0.443 c-f	217 f-m	925 j-o	0.765f-n
1-25	0	0.889 c-i	0.579 l-n	0.467 a-c	209 l-t	1018 a-d	0.794 b-f
	10	0.920 a-d	0.549 no	0.494 ab	209 l-t	995 a-h	0.788 b-h
	20	0.886 c-g	0.564 m-o	0.471 a-c	213 i-q	917 k-o	0.775 c-m
	30	0.816 k	0.455 s-u	0.407 f-k	216 f-n	920 k-o	0.764 g-l
	40	0.764 lm	0.448 tu	0.346 o-q	222 b-g	908 m-o	0.755 k-o
سوپرنوا Supernova	0	0.898 b-g	0.678 g-j	m-q ۰.35	208 m-t	1030 ab	0.785 b-i
	10	0.875 f-i	0.685 f-i	0.382i-o	210 j-s	1000 a-g	0.788 b-h
	20	0.808 k	0.639 k	0.337 p-r	213 h-p	747 r	0.774 c-n
	30	0.682 pq	0.388 wx	0.254 t	219 e-i	877op	0.749 m-o
	40	0.493 s	0.338 y	0.315 q-s	229 a-c	780 qr	0.705 q
1-16	0	0.900 a-h	0.779 a	0.422 d-i	210 k-s	993 a-h	0.789 b-h
	10	0.905 a-h	0.690 f-h	0.417 e-j	212 i-r	954 e-n	0.766 b-m
	20	0.898 b-h	0.658 i-k	0.419 d-j	213 h-p	926 i-o	0.769 e-n
	30	0.747 mn	0.495 q	0.361 l-p	217 f-k	895 n-p	0.756 j-o
	40	0.574 r	0.435 uv	0.306 rs	230 a-c	839 pq	0.734 op
پایه GN15 Rootstock GN15	0	0.924 abc	0.575 ab	0.383 i-o	210 n-s	1039 a	0.797 b-e
	10	0.903 a-h	0.763 a	0.392 h-m	214 h-p	1028 a-c	0.791 b-g
	20	0.872 gi	0.717 d-f	0.380 j-o	218 f-k	1003 a-g	0.781 b-l
	30	0.822 jk	0.604 l	0.383 i-o	224 b-g	937 h-n	0.760 h-o
	40	0.553 r	0.359 xy	0.360 l-p	233 a	739 r	0.683 q

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم اختلاف معنی دار میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد

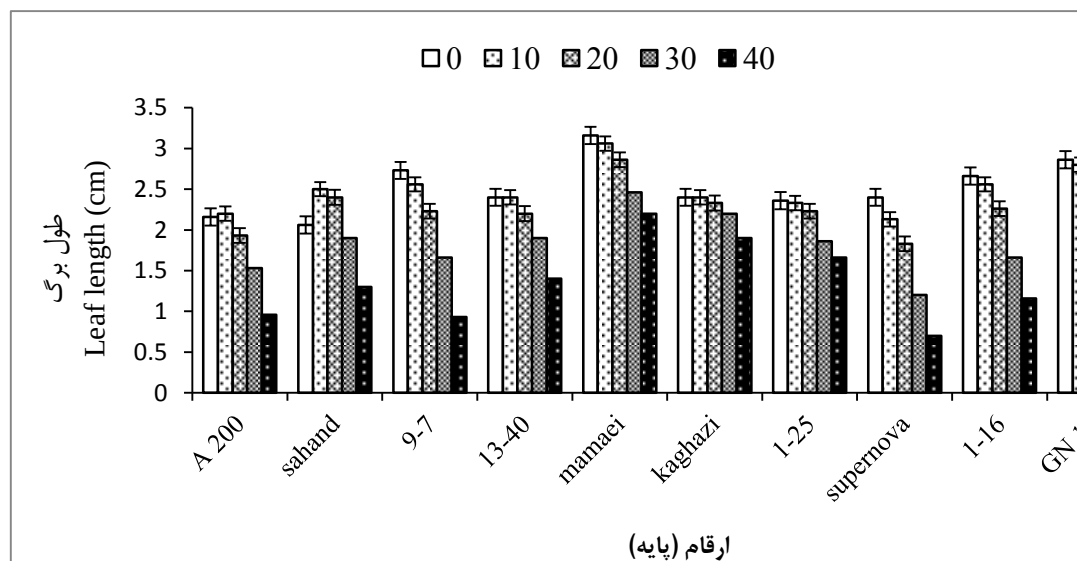
The same letters in each column indicate no significant difference between the numbers at 5% of probability level using Duncan's Multiple Range Test.



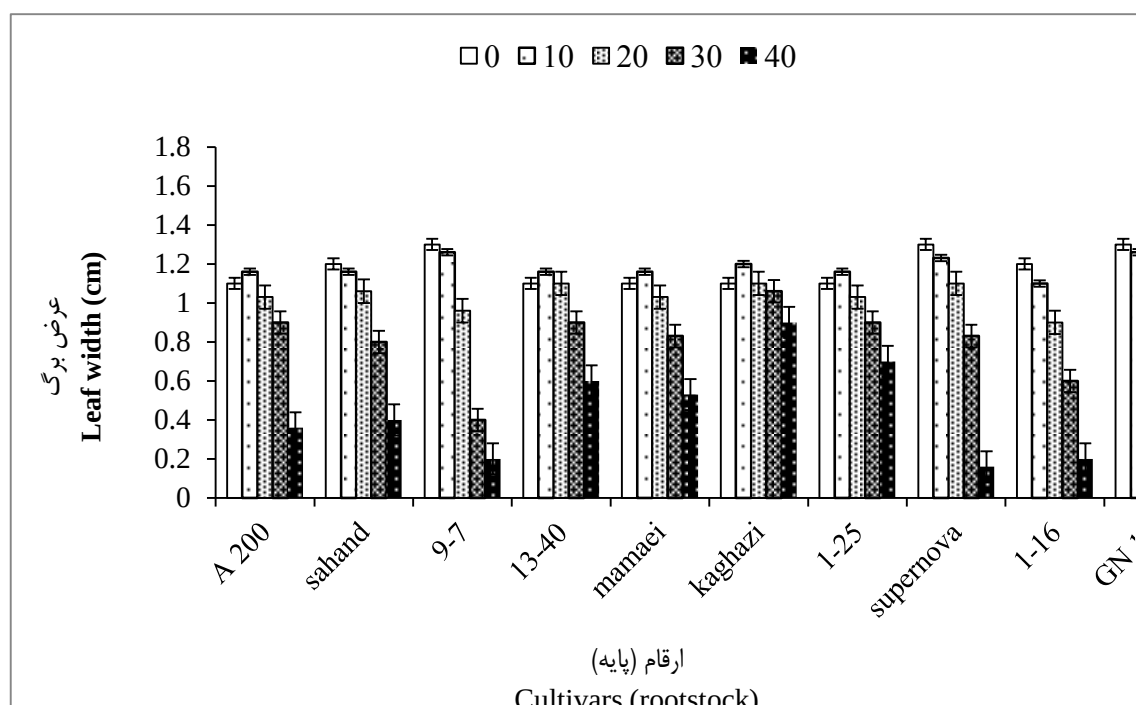
شکل ۳- اثر متقابل رقم × غلظت بی کربنات بر ارتفاع شاخه سال جاری ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 3- The interaction effect of cultivar × bicarbonate concentration on current season branch height of of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۴- اثر رقم × غلظت بی کربنات بر قطر شاخه سال جاری ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 4- The effect of cultivar × bicarbonate concentration on current season branch diameter of of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۵- اثر متقابل رقم × غلظت بی کربنات بر طول برگ ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 5- The interaction effect of cultivar × bicarbonate concentration on leaf length of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۶- اثر متقابل رقم × غلظت بی کربنات بر عرض برگ ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15
Figure 6- The interaction effect of cultivar × bicarbonate concentration on leaf width of almond cultivars grafted on GN15 rootstock. (DMRT, $p \leq 0.05$)

نتیجه گیری

نقش دارند. هرچند کلروز ناشی از کربنات کلسیم منجر به اختلال و کاهش رشد مشخص در ترکیب پیوندی می گردد، اما توانایی ارقام مختلف بادام در کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش بی کربنات متفاوت می باشد. به طوری که در مجموع صفات مرفولوژی و فیزیولوژی

به طور کلی با نتایج این تحقیق مشخص شد که پایه و رقم پیوندی در بادام بر میزان تحمل به کلروز ناشی از بی کربنات کلسیم

منابع

1. Ana A.F., Pilar P., Javier A., and Anuciacion. 2003. Effects of Fe Deficiency Chlorosis on Yield and Fruit Quality in Peach (*Prunus persica* L. Batsch. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 5731-5744.
2. Arnon D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in Beta vulgaris. Plant Physiology 24: 1-15.
3. Baker N.R., and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities, Journal of Experimental Botany 55: 1607-1621.
4. Bongí G., and Loreto F. 1989. Gas exchange properties of salt stressed olive (*Olea uropea* L.) leaves. Plant physiology 90: 1408-1416.
5. Cambrollé J., García J.L., Ocete R., Figueroa M.E., and Cantos M. 2015. Evaluating tolerance to calcareous soils in Vitis vinifera ssp. sylvestris. Plant and Soil 396.1-2:97-107.
6. Claudia O., and Jaime R. 2003. The chelating agent under environmental scrutiny. Química Nova 26(6): 901- 906.
7. Constantinos T., Thomas T., Kalomira E., and Anestis I. 2005. Effect of Peach Cultivars, Rootstocks and *Phytophthora* on Iron Chlorosis World. Journal of Agricultural Sciences 1(2): 137-142.
8. De L., Guardia M.D., and Alcántara E. 2002. A comparison of ferricchelate reductase and chlorophylland growth ratios as indices of selection of quince, pear and olive genotypes under iron deficiency stress. Plant Soil 241: 49-5.
9. Donnini S., Castagna A., Ranieri A., and Zocchi G. 2009. Differential responses in pear and quince genotypes induced by Fe deficiency and bicarbonate. Journal of Plant Physiology 166: 1181-1193.
10. Imani A., Hadavi E., and Salimi M. 2016. Study of the Effect of Irrigation Water Bicarbonate on Growth and Some Physiological Properties of 6 Growth Approaches of Apple. Tehran University Journals 4(1): 1-15. (In Persian with English abstract)
11. Gasemi A., Nasiri J., and Yahya Abadi M. 2010. Study of the Relative Tolerance of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Rootstocks to Different Bicarbonate Concentrations. Journal of Seed and Plant Production 26(2): 137-151. (In Persian with English abstract)
12. Gruber B., and Kosegarten H. 2002. Depressed growth of non-chlorotic vine grown in calcareous soil is an iron deficiency symptom prior to leaf chlorosis. Plant Nutrition and Soil Science 164(2): 155-163.
13. Hakan N., Khanizadeh S., Deell J., and Ricker C., 2000. Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. In: Hort Science., 35: 184-186.
14. Jung S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of Arabidopsis thaliana subjected to drought. Plant Science 166: 459-466
15. Köseoğlu A.T. 1995. Effects of iron chlorosis on mineral composition of peach eaves. Journal of Plant Nutrition 18(4): 765-776.
16. Ksouri R., Gharsalli, M., and Lachaal M. 2005. Physiological response of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. Plant Physiology 162: 335- 341.
17. Liu J., and Shi D.C. 2010. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. Photosynthetica 48: 127-134.
18. Malakoti M.J., and Shahabi A.A. 2002. The role of bicarbonate in the development of nutritional defects in fruit trees. Sana Publication 108 P.
19. Malassiotis A., Tanou G., Diamantidis G., Patakas A., and Therios L. 2006. Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. Journal of Plant Physiology 163: 176-185.
20. Manzari Tvakoli M., Bageri V., Karimi H., and Rostaei H. 2016. Evaluation of some physiological and growth responses of three different genotypes of walnut to irrigation water bicarbonate. Iranian Journal of Horticultural Science 46(4): 549-561. (In Persian with English abstract)
21. Malakoti M.J., and Homaei M. 2004. Fertility of soils in arid regions (Problems and Solutions), Second Edition Full Review, Tarbiat Modares University Press, Tehran, Iran. 321 pp.
22. Maribela P., Amarilis D.V., Javier A., and Eugenio A. F. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. Scientia Horticulturae 104: 25-36
23. Meral I., Turgut Y., Berken C., and Bilge Y. 2015. Influences of different iron levels on plant growth and photosynthesis of W. Murcott mandarin grafted on two rootstocks under high pH conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 39(5): 838-844.
24. Momen por A., Bakhshi D., Imani A., and Rezaei H. 2015. Effect of salinity stress on the morphological and physiological characteristics in som selected almond (*prunus dulcis*) genotypes budded on GF677 Rootstock. Journal

- of Water Research in Agriculture (Soil and Water Sci.) 32(2): 201-215. (In Persian with English abstract)
25. Prado R.M., and Alcantara-Vara E. 2011. Tolerance to iron chlorosis in non-grafted quince seedlings and in pear grafted onto quince plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 11(4): 119-128.
26. Sergio J., Nathalie O., Catherine D., Mickael M., Ruben R.A., María A.M.Y., and olanda G. 2008. Metabolic response in roots of *Prunus* rootstocks submitted to iron chlorosis. *Journal of Plant Physiology* 415-423
27. Tadaion M.S., Talaei A., and Malakoti M. J. 2004. Investigation on the influence of different rootstocks on iron absorption with chlorosis paradox in grafted orange cultivars. *Iranian Horticultural Science* 5: 23-32. (In Persian with English abstract)
28. Taheri M. 2011. Nitrogen absorption and metabolism study on vegetative growth of some olive cultivars. Phd dissertation on horticulture. Tehran University, Tehran, Iran.
29. Wahome P.K., Jesch H.H., and Grittner I. 2001. Mechanisms of salt stress tolerance n two rose rootstocks: *Rosa Chinensis* Major and *Science Horticulture* 87: 207-216.
30. Yamasaki T., Yamakawa T., Yamane Y., Koike H., Satoh K., and Katoh S. 2002. Temperature acclimation of photosynthesis and related changes in photosystem II electron transport in winter wheat. *Plant Physiology* 128: 1087-1097.
31. Yang J.Y., Zheng W., Tian Y., and Zhou D.W. 2011. Effects of various mixed saltalkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenica* seedlings. *Photosynthetica* 49: 275-284.
32. Yang C.W., Xu H.H., Wang L.L., Liu J., Shi D.C., and Wang D.L. 2009. Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica* 47: 79-86
33. Zribi K.M. 2002. Effect of bicarbonate on growth and iron nutrition of pea. *Journal of Plant Nutrition* 25: 2143-2149.



Evaluation of Calcium Bicarbonate Effects on Physiological Reaction and Growth Indices of Almond Cultivars Grafted on GN15 Rootstock

A. Imani¹- K. Parvizi^{2*}- H. Beyrami Jam³- E. Hadavi⁴

Received: 02-03-2019

Accepted: 19-04-2020

Introduction: Iron chlorosis caused by calcium carbonate can be controlled widely with iron chelate in nutrition management of gardens, but it has high costs and potential environmental hazards. Such constraints have led to alternative strategies for managing iron nutrition in relation to soil and plant parameters. Almond rootstocks and almond x peach hybrids (GF 677) are widely used as the rootstock for almonds, peaches and nectarines in the Mediterranean basin, moreover, in addition to its drought resistance, has a high tolerance to iron chlorosis. Different references of almond tree have introduced this fruit tree as a chlorosis resistant, but it shows different ranges of chlorosis when grafted on almond x peach hybrids such as GF677 and GN15. Therefore, this study carried out to evaluate the effect of calcium bicarbonate on some physiological characteristics of selected almond cultivars on the GN15 rootstock.

Materials and Methods: This research was conducted during 2015 and 2016 to evaluate the resistance to bicarbonate and the amount of chlorosis produced in selected almond cultivars on the hybrid rootstock (peach and almond) as a factorial experiment with completely randomized design with three replications in greenhouse conditions. The first factor consisted of different concentrations of calcium bicarbonate (0, 20, 10, 30 and 40 mmol L⁻¹) and the second factor included nine selected almond cultivars grafted to the GN15 rootstock and a GN15 (non-grafted) rootstock. Almond cultivars included 9 cultivars including Supernova, 25-1, 40-13, Mamaei, 16-1, Kaghazi, Sahand, 200A, 7-9, and GN15 rootstock. Each plot included a pot, where the rootstock planted. In the spring, the cultivars and GN15 rootstock planted in plastic pots with soil compositions including perlite (50%) and cocopeat (50%). After sufficient growth of these rootstocks in the pots, almond cultivars were grafted onto them and immediately after the transplantation, the calcium bicarbonate treatments began after proper growth of the scions. In order to apply bicarbonate treatment, 1.62, 3.23, 4.86 and 6.48 g L⁻¹ calcium bicarbonate (Ca (HCO₃)₂) were added to the pots. In addition, 10% of calcium bicarbonate added also to the pots because of the deficiency of 10% chemical purity. After applying the treatments, chlorophyll, chlorophyll a and b, carotenoids, chlorophyll fluorescence were measured in two stages at intervals of 30 and 90 days. After the end of the growth period, the length and diameter of the current season branches and the leaf length and width of each almond cultivar were measured and recorded in different treatments. Two-way ANOVA of the data was carried out using SAS software (v. 8.02, SAS Institute, Cary, NC) and the means were compared based on Duncan's multiple range test.

Results and Discussion: Based on the ANOVA results, it was determined that the effects of calcium bicarbonate, cultivar and their interactions on the content of chlorophyll a and b were statistically significant ($p \leq 0.01$). The lowest decrease levels of chlorophyll a and b were found in the leaflets of Kaghazi, Mamaei, saplings, 25-1, and 40-13 cultivars, but the highest decrease was observed in Supernova cultivar, 7-9, and GN15. The reasons for decreasing the chlorophyll content of the leaf with the increase of bicarbonate levels can be related to iron deficiency and its deactivation and the role of iron in the synthesis of chlorophyll. Nevertheless, the difference for chlorophyll depletion at different levels of bicarbonate in different cultivars can be due to the capacity of these cultivars to tolerate higher levels of bicarbonate and the possibility of the synthesis of chloroplastic proteins in leaf cells even with a relative lack of iron. In all cultivars, as well as the GN15 rootstock, the level of carotenoids decreased with increasing concentrations of calcium bicarbonate. However, the response of the cultivars was different. Under bicarbonate conditions, reducing leaf iron concentration

1- Associate Professor, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

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

(*- Corresponding Author Email: k.parvizi@areeo.ac.ir)

3- Ms. Degree of Horticulture Crops Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Hamedan, Iran

4- Associate Professor, Horticultural Science Department, Islamic Azad University, Karaj, Karaj, Iran

reduces chlorophyll and carotenoids. The results of the mean comparison showed that bicarbonate induced height growth reduction and branch diameter in the current season, while the reaction of the studied rootstocks were also different. So that the highest decrease in growth rate was observed in Supernova, 7-9 cultivars and GN15 rootstock and the lowest decrease of growth rate were found in the cultivars of Kaghazi, 1.25-1 and -40-13. High concentrations of bicarbonate, by disabling and decreasing iron absorption, indirectly reduces DNA synthesis, cell division, and thus decreases cell growth and plant biomass. The results of this study are in agreement with Ghasemi et al. (2010) in different responses of the rootstock to bicarbonate concentration on the height and diameter decreasing of current season branch. Mean comparison of data showed that the length and width of leaf area in all studied cultivars decreased with increasing concentration of calcium bicarbonate in irrigation water. Also, leaf length and width decrease in rootstock grafted cultivars had a significant difference, so that the lowest reduction in leaf length and width was in pepper, midwifery and 25-1, and the highest leaf area decrease in Supernova cultivars, 7-9 and GN15 base was observed. Leaf growth decreases in calcareous soils due to a decrease for iron in the symplast. The specific effects of high bicarbonate on leaf growth in almond cultivars and the different reaction of almond rootstocks in this study are in agreement with Tedaion et al. (2004) results in orange, as well as Wahom et al. (2001) in olive and peach.

Conclusion: Totally, the results of this study indicate that cultivar and rootstock cause the amount of chlorosis tolerance induced by calcium bicarbonate. In general, in terms of morphological and physiological traits studied in this research, Kaghazi and 25-1 cultivars are the most tolerant, while 7-9 and supernova are the most sensitive cultivars to bicarbonate.

Keywords: Almond rootstock, Chlorophyll, Chlorosis, Morphological characteristics, Soil lime



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی میزان تغییرات خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مختلف پولک (*Stachys inflata* Benth.) در استان همدان

مهتاب صالحی^{۱*} - رمضان کلوندی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۱

چکیده

پولک (*Stachys inflata* Benth.) گیاه دارویی متعلق به تیره نعنائیان، در طب سنتی و بومی کاربرد گسترده‌ای دارد. این پژوهش، به‌منظور بررسی میزان تغییرات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی هفت جمعیت گیاه پولک در مناطق مختلف استان همدان به اجرا درآمد. جمعیت‌ها از مناطق قاضی‌خان، آورزمان، اکباتان، اسدآباد، ازناوله، کوهانی و گاماسیاب جمع‌آوری گردید. صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، طول و عرض براكته و گلچه، طول گل آذین و طول میانگره، وزن تر و خشک شاخه گلدار، وزن تر و خشک برگ و گل و قطر ساقه و تعدادی از صفات فیتوشیمیایی شامل درصد اسانس و محتوای فنل و فلاونوئید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد بیش‌ترین میزان اسانس مربوط به جمعیت‌های آورزمان، ازناوله و کوهانی (۰/۲ درصد حجمی - وزنی) و کم‌ترین میزان اسانس مربوط به جمعیت اسدآباد (۰/۱۱ درصد حجمی - وزنی) بود. اگرچه ۲۲ ترکیب در اسانس شناسایی شد، اما تنوع زیادی در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود داشت. جمعیت منطقه آورزمان، بیش‌ترین میزان فنل کل (۱۴۱/۹ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره) و فلاونوئید (۱۰۹/۴ میلی گرم روتین در گرم عصاره) را داشت. براساس نتایج تجزیه کلاستر، هفت جمعیت مورد مطالعه در دو گروه جداگانه قرار گرفتند. در این مطالعه، بیش‌ترین اسانس از جمعیت‌هایی به دست آمد که از مناطق دارای کمترین ارتفاع از سطح دریا (آورزمان، کوهانی و ازناوله) جمع‌آوری شده بودند. خاک این مناطق دارای فسفر بیشتری بود، بنابراین براساس نتایج حاصله، عوامل محیطی نیز همانند عوامل ژنتیکی در ایجاد تنوع در خصوصیات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی این گیاه مؤثر بوده‌اند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، فسفر، فلاونوئید، فنل کل

مقدمه

جمله رویشگاه‌های طبیعی این گونه، کشور ایران می‌باشد. این گونه در مناطق مختلف استان همدان، پراکنش وسیعی دارد (۱۰). آب و هوای استان همدان به‌علت وجود کوه‌های مرتفع، رودخانه‌ها و پستی و بلندی‌های زیاد، بسیار متنوع می‌باشد. این تنوع آب و هوایی به همراه نوع خاک، ارتفاع و سایر شرایط محیطی، موجب شده است تا انواع پوشش‌ها و گونه‌های متفاوت گیاهی در نقاط مختلف استان مشاهده شود (۲۴). انعطاف‌پذیری ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، سبب تنوع و تغییر تدریجی آنها در مناطق مختلف جغرافیایی شده و جمعیت‌های یک گونه را به‌وجود می‌آورد که از نظر صفات نمودی، فیزیولوژیکی، شیمیایی، بوتانیکی و نهایتاً ژنتیکی از یکدیگر متمایز می‌باشند (۱۷). از مهم‌ترین خصوصیات ویژه یک برنامه اصلاحی در درون جامعه گیاهی، بررسی وجود تنوع ژنتیکی است (۹). تأثیر عوامل محیطی بر تولید مواد مؤثره دارویی، مسئله بسیار پیچیده‌ای است و این عوامل از جمله نور، آب و هوا، خشکی محیط، ارتفاع از سطح دریا و عوامل خاک می‌توانند بر مقدار کل ماده مؤثره، اجزای اسانس و

جنس *Stachys* از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) با حدود ۳۰۰ گونه در دنیا، پراکندگی وسیع و اثرات درمانی متعددی دارد (۲۱). در طب سنتی، گونه‌هایی مانند *S. schtschegleevii* و *S. inflata* Benth. با نام محلی پولک شناخته می‌شوند و در آذربایجان شرقی، به عنوان داروی ضد عفونت‌های ریوی و در بیماری‌های التهابی استفاده می‌گردند (۱۶). گونه *S. inflata* Benth. از پراکندگی فراوانی در سراسر جهان و به‌طور خاص در منطقه مدیترانه برخوردار است و از

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه نهاوند

(*) نویسنده مسئول: (Email: mhtb.salehi@gmail.com)

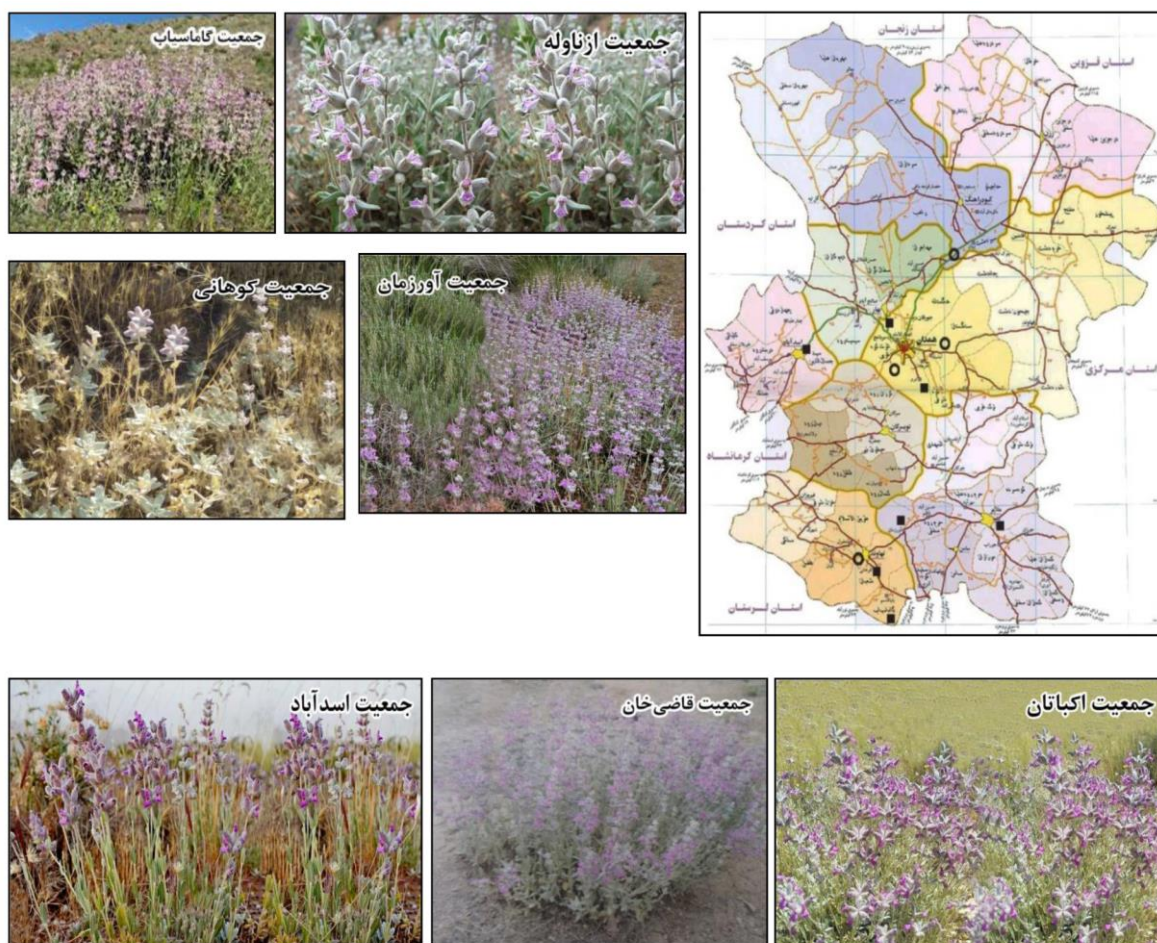
۲- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

بیوماس تولیدی گیاه تأثیرگذار باشند (۱۹). مطالعات صورت گرفته، بیانگر وجود تنوع درون و بین گونه‌ای قابل ملاحظه اجزای اسانس این گیاهان است. در بررسی *S. inflata* Benth. جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف استان مازندران، اصلی‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس، بی‌سیکلو ژرماکرن (از ۱۱/۲ تا ۱۶/۶ درصد) و ژرماکرن دی (از ۸/۷ تا ۱۶/۹ درصد) بیان گردید (۲). در مطالعه‌ای بر روی گیاه *S. schtschegleevii* Sosn. که از جلفا در استان آذربایجان جمع‌آوری گردید، مهم‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس، آلفا-پینن (۲۷/۴۳ درصد)، بتا-فلاندرن (۱۴/۶۸ درصد)، ژرماکرن دی (۱۴/۱۲ درصد)، بتا-پینن (۱۰/۲۵ درصد) و آلفا-فلاندرن (۴/۷۰ درصد) گزارش گردید (۱۸). هدف از این پژوهش، ارزیابی تنوع مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی برخی جمعیت‌های گیاه پولک در مناطق مختلف استان همدان بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، هفت جمعیت گیاه *S. inflata* Benth. از مناطق مختلف استان همدان شامل قاضی‌خان، آورزمان، اکباتان، اسدآباد، ازناوله، کوهانی و گاماسیاب در مرحله گلدهی در خردادماه سال ۱۳۹۶ جمع‌آوری گردید (۱۰۰ نمونه از هر جمعیت) و به‌منظور شناسایی و تفکیک این گونه از گونه‌های مشابه، در هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، بررسی لازم صورت گرفت. انتخاب مناطق جمع‌آوری براساس فلور ایرانیکا (۲۱) و سایر گزارش‌های ارائه‌شده (۱۰) در زمینه پراکنش این گونه در استان همدان صورت گرفت (شکل ۱). سپس صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، طول و عرض برگ، طول و عرض براکته و گلچه، طول گل‌آذین و طول میانگره با خط کش، وزن تر و خشک شاخه گلدار، وزن تر و خشک برگ و گل با ترازوی آزمایشگاهی و قطر ساقه با کولیس و تعدادی از صفات فیتوشیمیایی شامل درصد اسانس و محتوای فنل و فلاونوئید بررسی گردید. به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، نمونه خاکی تا عمق ۳۰ سانتی‌متری از هر منطقه، جمع‌آوری شد (۵). نمونه خاک‌ها به آزمایشگاه منتقل شد و نتایج آنالیز خاک، در جدول ۱ آمده است. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری در مرحله گلدهی کامل، در سایه در دمای حدود ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند. سپس تا زمان اندازه‌گیری صفات فیتوشیمیایی، در پاکت کاغذی در آزمایشگاه با دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد و دور از نور خورشید به‌مدت یک ماه نگهداری شدند. برای اسانس‌گیری از نمونه‌ها، مقدار ۵۰ گرم پیکر رویشی (اندام هوایی) را آسیاب و سپس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به‌مدت سه ساعت اسانس‌گیری شد (۸). آبیگری نمونه‌ها با استفاده از سولفات سدیم خشک انجام شد. درصد اسانس، به‌صورت حجمی/وزنی تعیین شد. جهت تجزیه نمونه‌های اسانس و اندازه‌گیری

ترکیبات موجود در آن، از دستگاه کروماتوگراف گازی GC و کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/Mass) در پژوهشکده گیاهان دارویی کرج استفاده شد. دمای ابتدایی آون، ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما، به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق، ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۳۵ بود و از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر در دقیقه استفاده گردید. ورودی دستگاه به مدت سه دقیقه در ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس طی دو مرحله، با سرعت‌های ۸ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه، به ۲۰۰ و ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد رسانده و به مدت سه دقیقه در این دما نگهداری شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده، مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون، ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. گاز کروماتوگرافی استفاده‌شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-5MS بود. شناسایی طیف‌ها به کمک شاخص بازداري آنها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف‌های جرمی و ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دیجیتال دستگاهی صورت گرفت (۱ و ۱۲) (شکل ۲). به منظور عصاره‌گیری، ۱۰ گرم از پودر گیاه، با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول، به مدت ۲ ساعت توسط دستگاه اولتراسونیک عصاره‌گیری شد (۲۰). جهت بررسی محتوای تام فنلی و فلاونوئید از روش خلیقی سیگارودی و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد (۱۱). برای اندازه‌گیری فنل، غلظت‌های مختلف گالیک اسید استاندارد، عصاره گیاه و آب مقطر شاهد در سه تکرار تهیه شد و به آنها معرف فولین - سیوکالتو و سدیم کربنات اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در برابر شاهد توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در مورد فلاونوئید، غلظت‌های مختلف روتین استاندارد تهیه شد و به آن، سدیم نیتريت، کلرید آلومینیوم و سود اضافه گردید. سپس جذب محلول صورتی‌رنگ در برابر شاهد در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. داده‌های این مطالعه، براساس طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS(9.2) در سطح احتمال پنج و یک درصد، تجزیه آماری شدند. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون دانکن استفاده گردید. گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی و از طریق تجزیه کلاستر به‌وسیله نرم‌افزار SPSS به روش «وارد» انجام شد. همبستگی صفات (کمی) نیز به روش «پیرسون» انجام شد.



شکل ۱ - مناطق نمونه‌برداری و تصاویر جمعیت‌های گونه *S. inflata* در استان همدان

(مربع‌های سیاه‌رنگ روی نقشه، نشان‌دهنده مناطق جمع‌آوری گیاه هستند و دایره‌های توخالی، سایر مناطق پراکنش گیاه را نشان می‌دهند).

Figure 1- Sampling regions and photos of *S. inflata* populations in Hamedan Province

(Squares on the map, are plant collection regions and empty circles, show other distribution regions of the plant).

نتایج و بحث

مقایسه میانگین‌های صفات نشان داد که بیش‌ترین میزان ارتفاع گیاه (۴۷/۲ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت آورزمان بود که با سایر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری داشت و کم‌ترین آن مربوط به جمعیت منطقه گاماسیاب (۲۶ سانتی‌متر) بود. همچنین بیش‌ترین مقدار قطر ساقه (۲/۵۴ میلی‌متر) مربوط به جمعیت آورزمان بود که از نظر آماری، با جمعیت اسدآباد (۲/۳۸ میلی‌متر) تفاوت معنی‌داری نداشت و کم‌ترین مقدار قطر ساقه در جمعیت‌های روستای کوهانی (۱/۳۹ میلی‌متر) و سد اکباتان (۱/۵۰ میلی‌متر) مشاهده شد (جدول ۲). بیش‌ترین میزان طول برگ مربوط به جمعیت منطقه اسدآباد (۳/۶۰ سانتی‌متر) بود. جمعیت اسدآباد، دارای بیش‌ترین تعداد گل (۷/۲) و بلندترین گل‌آذین (۲۱/۲ سانتی‌متر) بود که با جمعیت‌های ازناوله، قاضی‌خان و آورزمان، تفاوت معنی‌داری نداشت. جمعیت اسدآباد همچنین بیش‌ترین عرض براکته

(۰/۶۶ سانتی‌متر) و بالاترین وزن خشک (۱/۱۶ گرم) و وزن تر (۲/۶۹ گرم) شاخه گلدار را داشت. در مورد صفات طول و عرض گلچه، بالاترین مقدار این صفات مربوط به جمعیت منطقه ازناوله (به ترتیب ۱/۶۸ و ۰/۸۸ سانتی‌متر) و کم‌ترین آن مربوط به جمعیت سد اکباتان (به ترتیب ۱/۲۸ و ۰/۵۸ سانتی‌متر) بود. بیش‌ترین میزان اسانس از جمعیت‌های آورزمان، ازناوله و کوهانی (۰/۲ درصد) به دست آمد و جمعیت اسدآباد، دارای کم‌ترین اسانس (۰/۱۱ درصد) بود. بیش‌ترین میزان فنل کل (۱۴۱/۹ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره) و فلاونوئید (۱۰۹/۴ میلی گرم روتین در گرم عصاره)، در جمعیت منطقه آورزمان مشاهده گردید و کم‌ترین میزان فنل کل (۸۶/۹ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره) مربوط به جمعیت منطقه اسدآباد و کم‌ترین میزان فلاونوئید (۶۸/۸ میلی گرم روتین در گرم عصاره) مربوط به جمعیت منطقه کوهانی بود (جدول ۲).

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک روشنگاهای جمعیت‌های مورد مطالعه *S. inflata*
Table 1- Geographical characteristics and chemical and physical properties of the soil of studied *S. inflata* populations habitats

روشگاه Habitat	طول Longitude	عرض Latitude	ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude (m)	مجموع بارندگی سالیانه (میلی‌متر) Total annual rainfall (mm)	میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد) Average annual temperature (°C)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) Electrical conductivity (ds.m ⁻¹)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	پتاسیم قابل دسترسی (پی.پی.ام) Available potassium (ppm)	فسفر قابل دسترسی (پی.پی.ام) Available phosphorus (ppm)	نیترژن قابل جذب (درصد) Absorbable nitrogen (%)	کربنات کلسیم (درصد) Carbonate calcium (%)	اسیدیته گل اشباع Saturated soil acidity (pH)
آورزمان Avarzman	34° 18'	48° 36'	1708	230.2	16.4	0.41	0.2	100.0	28.0	0.02	3.0	7.5
کوهانی Koohani	34° 09'	48° 24'	1715	275.4	17.2	0.53	1.6	180.0	28.8	0.17	14.4	7.5
ازناوله Aznavaleh	34° 14'	48° 85'	1809	199.1	15.5	0.4	0.4	70.0	21.3	0.04	46.7	7.6
گاماسیاب Gammasiab	34° 03'	48° 22'	1848	280.3	16.3	0.5	0.8	100.0	21.3	0.08	3.8	7.6
اسداباد Asadabad	34° 53'	48° 14'	1997	377.5	16.1	0.4	0.4	70.0	15.6	0.04	3.8	7.6
اکباتان Ekbatan	34° 44'	48° 36'	2030	193.3	16.6	0.48	0.3	70.0	11.0	0.03	8.5	7.5
قاضی‌خان Ghazi Khan	34° 49'	48° 19'	2105	202.5	15.3	0.47	0.5	90.0	18.4	0.05	2.3	7.6

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی جمعیت‌های مورد مطالعه *S. inflata*
Table 2- Compare means of morphological and phytochemical traits of studied populations of *S. inflata*

ردیف Row	جمعیت Population		گاماسیاب Gammasiab	کوهانی Koohani	اسداباد Asadabad	ازناوله Aznaveleh	قاضی خان Ghazi Khan	اکباتان Ekbatan	آورزمان Avarzman
	صفت Trait								
1	ارتفاع بوته (سانتی متر)	Plant height (cm)	26 ^c	32.60 ^{bc}	38.20 ^b	31.60 ^{bc}	35.80 ^b	38.20 ^b	47.20 ^a
2	قطر ساقه (میلی متر)	Stem diameter (mm)	1.66 ^{cd}	1.39 ^d	2.38 ^{ab}	2.03 ^{bc}	1.72 ^{cd}	1.50 ^d	2.54 ^a
3	طول برگ (سانتی متر)	Leaf length (cm)	2.70 ^c	2.84 ^{bc}	3.60 ^a	2.70 ^c	3 ^{bc}	3.10 ^b	2.90 ^{bc}
4	عرض برگ (سانتی متر)	Leaf width (cm)	0.94 ^{abc}	0.82 ^{bc}	1.10 ^a	1 ^{ab}	0.74 ^c	1.06 ^{ab}	1.14 ^a
5	تعداد گل در بوته	Number of flowers per plant	4.8 ^b	4.6 ^b	7.2 ^a	6.4 ^{ab}	6.4 ^{ab}	5.2 ^b	6 ^{ab}
6	طول گل آذین (سانتی متر)	Inflorescence length (cm)	11.1 ^b	10.9 ^b	21.20 ^a	15.6 ^{ab}	16.4 ^{ab}	14.4 ^b	20.6 ^a
7	طول براکت (سانتی متر)	Bract length (cm)	0.66 ^{ab}	0.7 ^a	0.74 ^a	0.72 ^a	0.7 ^a	0.58 ^b	0.76 ^a
8	عرض براکت (سانتی متر)	Bract width (cm)	0.46 ^b	0.52 ^b	0.66 ^a	0.5 ^b	0.5 ^b	0.5 ^b	0.5 ^b
9	طول گلچه (سانتی متر)	Floret length (cm)	1.36 ^{abc}	1.50 ^{abc}	1.60 ^{ab}	1.68 ^a	1.54 ^{ab}	1.28 ^c	1.50 ^{abc}
10	عرض گلچه (سانتی متر)	Floret width (cm)	0.83 ^{ab}	0.8 ^{ab}	0.82 ^{ab}	0.88 ^a	0.68 ^{bc}	0.58 ^c	0.72 ^{abc}
11	وزن تر شاخه گلدار (گرم)	Fresh weight of floral branch (gr)	1.526 ^{bc}	1.120 ^c	2.694 ^a	2.026 ^{ab}	1.522 ^{bc}	1.846 ^{bc}	1.620 ^{bc}
12	وزن خشک شاخه گلدار (گرم)	Dry weight of floral branch (gr)	0.804 ^{bcd}	0.578 ^d	1.162 ^a	1.102 ^{ab}	0.718 ^{cd}	0.794 ^{bcd}	0.948 ^{abc}
13	وزن تر برگ (گرم)	Fresh weight of leaf (gr)	0.272 ^a	0.032 ^b	0.062 ^b	0.05 ^b	0.038 ^b	0.066 ^b	0.062 ^b
14	وزن خشک برگ (گرم)	Dry weight of leaf (gr)	0.028 ^a	0.016 ^b	0.022 ^{ab}	0.024 ^{ab}	0.02 ^{ab}	0.026 ^a	0.028 ^a
15	وزن تر گل (گرم)	Fresh weight of flower (gr)	0.19 ^a	0.26 ^a	0.24 ^a	0.18 ^a	0.14 ^a	0.14 ^a	0.15 ^a
16	وزن خشک گل (گرم)	Dry weight of flower (gr)	0.098 ^a	0.054 ^b	0.092 ^a	0.108 ^a	0.064 ^b	0.054 ^b	0.066 ^b
17	طول میانگوه (سانتی متر)	Internode length (cm)	2.6 ^{ab}	2.7 ^a	2.7 ^a	2.1 ^{bc}	2 ^c	2.6 ^{ab}	3.1 ^a
18	درصد اسانس	Essential oil percentage	0.15 ^c	0.2 ^a	0.11 ^d	0.2 ^a	0.16 ^{bc}	0.17 ^b	0.2 ^a
19	میزان فلاونوئید (میلی گرم روتین در گرم عصاره)	Flavonoid content (mg in routine / gr of the extract)	77.2 ^d	68.8 ^g	70.8 ^f	82.07 ^c	75.5 ^e	85.1 ^b	109.4 ^a
20	میزان فنل (میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره)	Phenol content (mg of Galic acid / gr of the extract)	100.5 ^e	106.2 ^b	86.9 ^g	104.5 ^c	91.5 ^f	103.5 ^d	141.9 ^a

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، تفاوت آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.
In each row, means with at least a similar letter, are not significantly different (P<0.05).

اگرچه ۲۲ ترکیب در اسانس هفت جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد (جدول ۳)، اما اسپاتولول (۲۶/۵۲ درصد) در جمعیت اسدآباد، اکتانول استات (۱۴/۰۳ درصد) و اینسنسول استات (۱۳/۴۱ درصد) در جمعیت آورزمان، ژرماکرن دی (۱۳/۹۶ درصد) در جمعیت ازناوله، بی سیکلو ژرماکرن (۱۰/۶۶ درصد) و فیتول (۹/۵۲ درصد) در جمعیت اکباتان، اجزای اصلی تشکیل دهنده اسانس بودند. همچنین تنوع زیادی در درصد و نوع اجزای تشکیل دهنده اسانس در جمعیت‌های مورد مطالعه وجود داشت، به‌طوری که بیش‌ترین میزان اکتانول استات (۱۴/۰۳ درصد)، اینسنسول استات (۱۳/۴۱ درصد)، اسکالارن (۸/۲۶ درصد) و اینسنسول (۷/۷۷ درصد) در جمعیت آورزمان و بالاترین میزان آلفا-پینن (۶/۱۸ درصد) و ژرماکرن دی (۱۳/۹۶ درصد) در جمعیت ازناوله و بیش‌ترین درصد بی‌سیکلو ژرماکرن (۱۰/۶۶ درصد) و فیتول (۹/۵۲ درصد) در جمعیت اکباتان و بالاترین درصد اسپاتولول (۲۶/۵۲ درصد) در جمعیت اسدآباد و بیش‌ترین میزان هگزا دکانویک اسید (۹/۴۶ درصد) در جمعیت گاماسیاب مشاهده شد (جدول ۳). موضوع وجود تنوع در درصد و نوع اجزای تشکیل دهنده اسانس در آزمایشاتی که در مناطق دیگر نیز انجام شده است، مورد تأیید قرار گرفته است. نتایج آزمایش یابوری و شاه-گلزاری (۲۰۱۲) در بررسی مواد تشکیل دهنده *S. inflata* Benth. در تویسرکان نشان داد که بیش‌ترین اجزای موجود در اسانس شامل کاربوفیلن اکسید (۱۳/۸۴ درصد)، ای-سیترال (۱۳ درصد)، زد-سیترال (۱۲/۹ درصد)، اسپاتولول (۱۰/۶۵ درصد)، ای-آر-کورکومین (۶/۵۱ درصد)، ۸۱-سینثول (۴/۸۹ درصد)، لیمونن (۴/۶ درصد) و آلفا-ترپینئول (۲/۵۵ درصد) بود (۲۵). سجادی و سومائی (۲۰۰۴) بر روی اجزای شیمیایی *S. inflata* که از کوه‌های صفه در استان اصفهان جمع‌آوری گردیده بود، مطالعه‌ای انجام دادند و ژرماکرن دی، بی‌سیکلو ژرماکرن، آلفا-پینن، بتا-فلاندرن را به‌عنوان اجزای اسانس اعلام نمودند (۲۲). بررسی انجام‌شده روی ترکیبات اسانس گیاه *S. inflata* نشان داد اصلی‌ترین اجزای تشکیل دهنده اسانس شامل هگزا دکانویک اسید (۹/۱ درصد)، بی‌سیکلوژرماکرن (۵/۱ درصد)، آلفا - پینن (۵/۸ درصد) و ژرماکرن - دی (۸/۹ درصد) بودند که این اجزاء با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۱۵).

تنوع موجود در ترکیبات این گیاه، به فاکتورهای متعددی از قبیل ژنتیک، عوامل محیطی و اثرات متقابل آنها و همچنین اندام گیاهی، زمان برداشت، روش عصاره‌گیری اکوتیپ و منشأ جغرافیایی (اقلیم، خاک، ارتفاع و توپوگرافی) بستگی دارد. باتوجه به پراکندگی وسیع *S. inflata* در ایران، این گونه در مناطق اکولوژیکی مختلف، اجزای اسانس متفاوتی دارد (۲۵). تحقیقات نشان داده است که تفاوت در خاستگاه ژنتیکی، فاکتورهای اکولوژیکی، تفاوت‌های ژنتیکی، تکنیک‌ها و روش‌های مورد استفاده در کشت، باعث ایجاد تفاوت‌های

کمی و کیفی در ترکیبات اسانس در گیاهان دارویی و معطر می‌شود (۴ و ۲۳).

در این پژوهش، بازده اسانس در جمعیت‌های گونه *S. inflata* از ۰/۱۱ تا ۰/۲ درصد (حجمی/وزنی) در مناطق مختلف، متغیر بود. در این مطالعه، رویشگاه‌های آورزمان، ازناوله و کوهانی با میزان اسانس ۰/۲ درصد در بین سایر رویشگاه‌های بررسی‌شده، دارای بالاترین میزان اسانس بودند (جدول ۲). این جمعیت‌ها از ارتفاعات پایین‌تری جمع‌آوری شده بودند (جدول ۱). علیمحمدی و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای بر روی *S. obtusirena*، علت بالا بودن اسانس این گونه را در مناطق با ارتفاع پایین، بیش‌تر بودن عمق و رطوبت خاک و عناصر غذایی در آن مناطق عنوان نمودند (۳). در مطالعه حاضر نیز، خاک رویشگاه‌های کم‌ارتفاع، دارای فسفر قابل‌دسترس بیش‌تری بوده است (جدول ۱). همچنین بین ارتفاع رویشگاه‌های مورد مطالعه از سطح دریا و میزان فسفر خاک این مناطق، همبستگی منفی و معنی‌دار (۰/۸۶-) وجود دارد (جدول ۴). به عبارت دیگر، با افزایش ارتفاع رویشگاه‌های مورد بررسی، میزان فسفر خاک کاهش می‌یابد و بیش‌ترین فسفر خاک، مربوط به مناطقی است که دارای کم‌ترین ارتفاع از سطح دریا بوده‌اند. به نظر می‌رسد یکی از دلایل بالا بودن میزان اسانس در رویشگاه‌های آورزمان، ازناوله و کوهانی، بالا بودن فسفر قابل‌دسترس این مناطق است. در مطالعه‌ای که توسط علی‌بخشی و همکاران (۱۳۹۳) بر روی اسانس گیاه *S. inflata* جمع‌آوری‌شده از رویشگاه‌های مختلف استان مازندران صورت گرفت، موضوع بالاتر بودن میزان اسانس در مناطقی با ارتفاع کم‌تر، مورد تأیید قرار گرفت (۲). به دلیل تفاوت‌های اقلیمی مناطق بررسی‌شده در این مطالعه و دیگر مطالعات یادشده، اختلاف در میزان و عملکرد اسانس این گونه، قابل توجیه است.

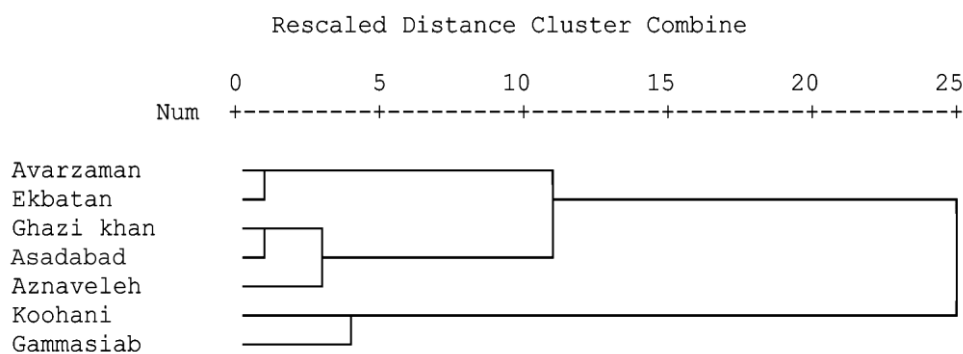
در این پژوهش، میزان فنل کل در جمعیت‌های گونه *S. inflata* از ۸۶/۹ تا ۱۴۱/۹ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و فلاونوئید از ۶۸/۸ تا ۱۰۹/۴ میلی گرم روتین در گرم عصاره در مناطق مختلف، متغیر بود (جدول ۲). در این مطالعه، رویشگاه آورزمان دارای بالاترین محتوای فنل و فلاونوئید کل بود (جدول ۲). به‌طور کلی، محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی تام، دارای تنوع وسیعی بین جمعیت‌ها بود. عوامل متعددی می‌تواند بر میزان ترکیبات فنلی تأثیرگذار باشد که نمونه گیاهی (نوع گونه، جمعیت، اندام مورد استفاده، مرحله نمو) و شرایط محیطی گیاه (نوع خاک، شرایط اقلیمی، تنش‌ها) از آن جمله می‌باشند (۱۴). در مطالعه محمدی و همکاران (۲۰۱۶)، میزان فنل (۱۲۹/۹۶ میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره) و فلاونوئید (۲۹/۶۲ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره) در اندام هوایی گیاه پولک جمع‌آوری‌شده از کوه‌های چهارباغ گرگان گزارش شده است (۱۳).

گروه‌بندی هفت جمعیت مورد مطالعه از گونه *S. inflata* براساس

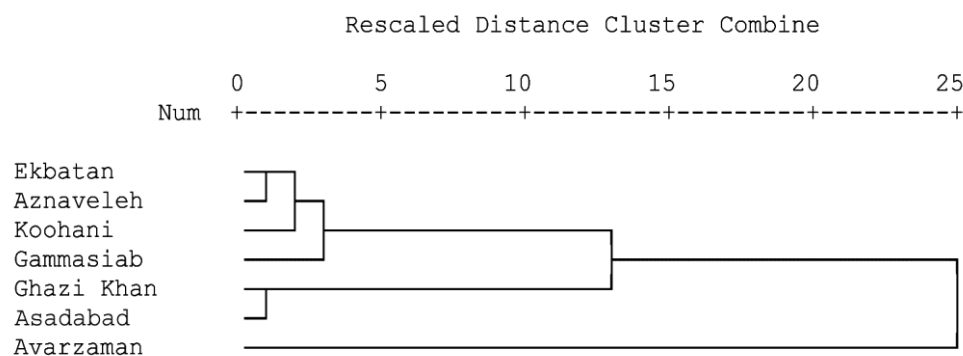
هاست. از طرفی، قرار گرفتن جمعیت‌ها در دو گروه جداگانه می‌تواند به دلیل تنوع جمعیت‌ها از نظر ژنتیکی و شرایط محیطی محل جمع آوری آنها باشد.

در این آزمایش، گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس ارزیابی صفات مورفولوژیکی، تا حدودی با پراکنش جغرافیایی آنها مطابقت داشت. زیرا جمعیت‌های مناطق کوهانی و گاماسیاب که هر دو در شهرستان نهاوند واقع هستند، در یک گروه طبقه‌بندی شدند. ولی در مورد صفات فیتوشیمیایی، این مطابقت وجود نداشت. عدم تطابق منشأ جغرافیایی با صفات فیتوشیمیایی با نتایج گزارشات قبلی در خانواده نعنایان مطابقت دارد (۷ و ۶).

صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی به روش «وارد» صورت گرفت. دندروگرام‌های به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژی و فیتوشیمیایی در جمعیت‌های جمع‌آوری‌شده، در شکل‌های ۲ و ۳ آمده است. براساس آنالیز دندروگرام صفات مورفولوژی، جمعیت‌های مطالعه شده به دو گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. جمعیت‌های آورزمان، اکباتان، قاضی‌خان، ازناوله و اسدآباد در گروه A و جمعیت‌های کوهانی و گاماسیاب در گروه B قرار گرفتند. همچنین براساس آنالیز دندروگرام صفات فیتوشیمیایی، جمعیت‌های اکباتان، قاضی‌خان، ازناوله، اسدآباد، کوهانی و گاماسیاب در گروه A و جمعیت آورزمان در گروه B قرار گرفتند. قرار گرفتن جمعیت‌ها در یک گروه، نشان‌دهنده یکنواختی بیش‌تر در جمعیت‌های آن گروه نسبت به سایر جمعیت



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه *S. inflata* Benth. براساس صفات مورفولوژیکی
Figure 2- Cluster analysis of studied *S. inflata* Benth. populations according morphological traits



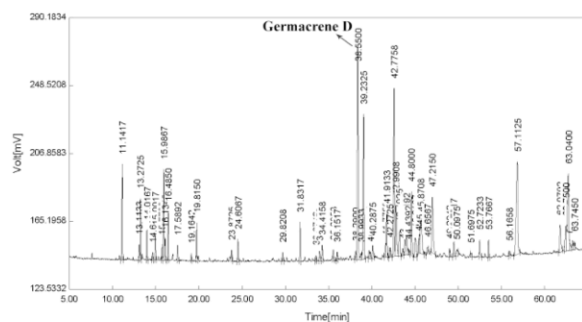
شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه *S. inflata* Benth. براساس صفات فیتوشیمیایی
Figure 3- Cluster analysis of studied *S. inflata* Benth. populations according phytochemical traits

جدول ۳- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان همدان
Table 3- Essential oil constituents of *S. inflata* populations gathered from different districts of Hamedan province

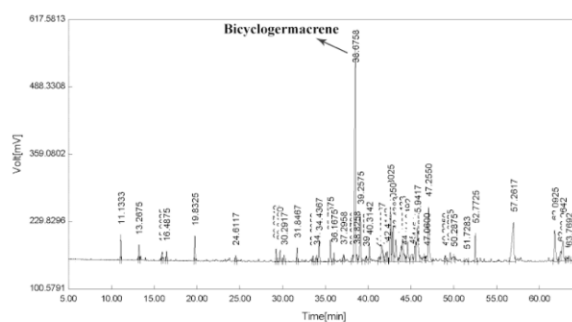
Essential oil components gathered from different districts of Hamadan province											
رویشگاه Habitat		آورزمان Avarzaman	اکباتان Ekbatan	قاضی خان Ghazi Khan	ازناوله Aznavaleh	اسداباد Asadabad	کوهانی Koohani	گاماسیاب Gammasiab			
درصد اسانس Essential oil percentage		0.2	0.17	0.16	0.2	0.11	0.2	0.15			
ردیف No	زمان بازداری RT	شاخص کواتس KI	ترکیبات تشکیل دهنده اسانس Essential oil components	درصد (%)	درصد (%)	درصد (%)	درصد (%)	درصد (%)			
1	11.69	935	α -Pinene	3.63	1.85	2.01	6.18	1.12	2.83		
2	14.03	982	β -Pinene	1.81	0.73	0.90	2.04	0.73	1.85		
3	16.75	1034	Limonene	0.55	0.74	2.37	1.70	0.50	3.15		
4	19.08	1079	n-Octanol	2.25	-	-	1.33	-	-		
5	20.52	1107	Linalool	1.50	2.70	2.26	2.29	1.33	1.33		
6	25.97	1217	Octanol acetate	14.03	0.46	0.45	1.70	0.35	0.85		
7	27.81	1256	2E- Decanal	0.38	-	0.45	-	0.74	-		
8	35.62	1431	(E,E)-2,4-undecadienal	0.39	0.81	2.28	0.88	1.88	0.61		
9	38.11	1490	Germacone D	4.77	0.75	9.98	13.96	0.54	9.63		
10	38.72	1505	Bicyclogermacrene	4.08	10.66	4.51	5.31	8.13	6.64		
11	41.44	1574	Dodecanoic acid	2.34	0.66	0.62	0.78	0.58	1.98		
12	42.15	1591	Spathulenol	2.36	7.89	6.03	5.83	4.07	8.06		
13	51.40	1847	Hexahydrofarnesyl acetone	0.55	1.16	1.28	1.00	1.63	0.86		
14	52.33	1874	Diisobutylphthalate	4.29	0.41	0.38	0.59	0.75	0.69		
15	54.29	1933	Cembrene	0.48	0.24	0.37	0.59	-	0.29		
16	55.33	1965	3-E-Cembrene A	2.71	2.02	0.37	1.04	1.23	-		
17	55.57	1972	Hexadecanoic acid	4.31	6.74	7.33	3.55	0.48	9.46		
18	57.40	2015	Sclarene	8.26	1.27	0.81	2.95	-	-		
19	60.01	2058	Phytol	6.10	9.52	3.42	3.29	1.06	2.17		
20	60.89	2073	Methyl linoleate	1.01	2.93	1.20	0.80	0.61	2.25		
21	61.54	2084	Incensole	7.77	5.16	1.50	6.88	-	0.40		
22	61.89	2090	Incensole acetate	13.41	5.22	2.29	8.28	-	-		
Total Identified				86.98	61.92	50.81	70.97	60.7	31.11	53.05	

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین ارتفاع رویشگاه‌های مورد مطالعه و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

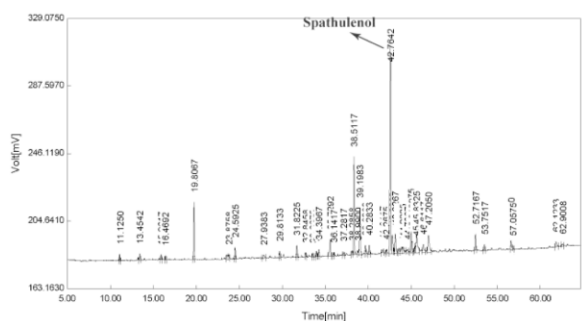
صفات مورد بررسی Studied traits	ارتفاع Height of Habitats	هدایت الکتریکی Electrical conductivity	اسیدیته اشباع Saturated soil acidity	کربنات کلسیم معادل Carbonate calcium Equivalent	ازت قابل جذب Absorbable nitrogen	فسفر قابل دسترس Available phosphorus	پتاسیم قابل دسترس Available potassium	کربن آلی Organic carbon	رس Clay	سیلت Silt	شن Sand
ارتفاع رویشگاه‌ها Height of habitats	1										
هدایت الکتریکی Electrical conductivity	-0.03 ^{ns}	1									
اسیدیته گل اشباع Saturated soil acidity	0.35 ^{ns}	-0.31 ^{ns}	1								
کربنات کلسیم معادل Carbonate calcium equivalent	0.49 ^{ns}	-0.29 ^{ns}	0.18 ^{ns}	1							
ازت قابل جذب Absorbable nitrogen	0.36 ^{ns}	0.75 [*]	-0.21 ^{ns}	0.20 ^{ns}	1						
فسفر قابل دسترس Available phosphorus	-0.86 [*]	0.13 ^{ns}	-0.28 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.51 ^{ns}	1					
پتاسیم قابل دسترس Available potassium	0.17 ^{ns}	0.68 ^{ns}	-0.46 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.91 ^{**}	0.73 ^{ns}	1				
کربن آلی Organic carbon	0.38 ^{ns}	0.76 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	0.02 ^{ns}	1.00 ^{**}	0.50 ^{ns}	0.90 ^{**}	1			
رس Clay	0.54 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.37 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.34 ^{ns}	1		
سیلت Silt	0.46 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.20 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.45 ^{ns}	0.7 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.46 ^{ns}	0.83 [*]	1	
شن Sand	0.32 ^{ns}	-0.28 ^{ns}	-0.25 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	-0.43 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.18 ^{ns}	-0.44 ^{ns}	-0.89 ^{**}	-0.99 ^{**}	1



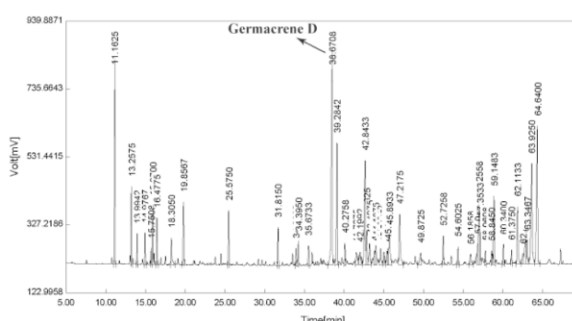
گاماسیاب (Gammasiab)



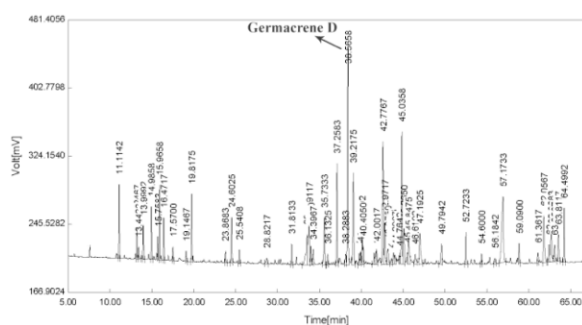
کوهانی (Koohani)



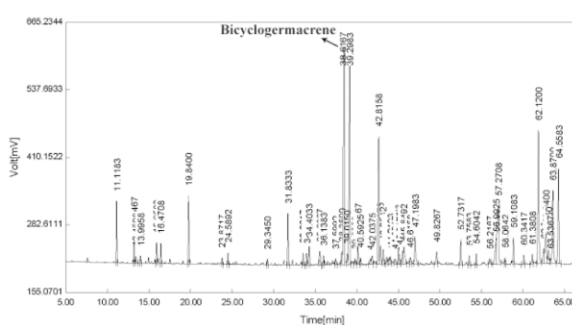
اسدآباد (Asadabad)



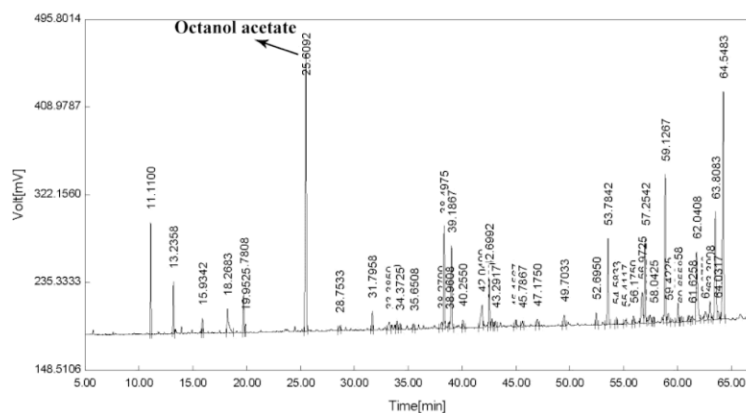
از ناوله (Aznaveleh)



قاضی خان (Ghazi khan)



اڪباتان (Ekbatan)



آورزمان
(Avarzaman)

شکل ۴- نمودارهای کروماتوگرام اسانس هفت جمعیت گونه *S. inflata* در استان همدان

Figure 4- Essential oil chromatograms of seven populations of *Stachys inflata* in Hamedan Province

نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که گیاه دارویی پولک، از نظر نوع و درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس در بین جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان همدان دارای تنوع بالایی می باشد. بیشترین میزان اسانس، مربوط به رویشگاه‌های آورزمان و کوهانی (واقع در شهرستان نهاوند) و ازناوله (واقع در شهرستان ملایر) بود. اما در رویشگاه گاماسیاب که از نظر جغرافیایی در شهرستان نهاوند واقع است، چنین نتیجه‌ای مشاهده نشد. همچنین جمعیت آورزمان، دارای بیشترین محتوای فنل و فلاونوئید بود که با جمعیت‌های مجاورش از جمله کوهانی و گاماسیاب، تفاوت معنی‌داری داشت. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که علاوه بر عوامل ژنتیکی،

عوامل محیطی و اقلیمی نیز بر صفات فیتوشیمیایی مؤثر هستند. در این مطالعه، بیشترین میزان اسانس در مناطقی تولید شده است که دارای کمترین ارتفاع از سطح دریا می‌باشند. این مناطق، دارای میزان فسفر در دسترس و بیش‌تری در خاک بودند. با توجه به تحقیقات صورت‌گرفته بر روی اجزای اسانس *S. inflata* Benth. در مناطق مختلف ایران، اجزای تشکیل دهنده اسانس و درصد‌های این اجزاء کاملاً متفاوت است؛ به‌طوری که برخی اجزایی که در یک منطقه دیده می‌شود، در منطقه دیگر وجود ندارد و این موضوع، تأکید بیش‌تری بر اثر اقلیم دارد. این تفاوت حتی در جمعیت‌های مورد مطالعه در یک استان نیز کاملاً مشهود است.

منابع

- 1- Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Australia.
- 2- Alibakhshi M., Mahdavi S.Kh., Mahmoodi J., and Ghelichnia H. 2014. Phytochemical evaluation of *Stachys inflata* essential oil in different habitats of Mazandaran Province. *Eco-phytochemical Journal of Medical Plants* 2(2): 56-68. (In Persian)
- 3- Alimohammadi M., Yadegari M., and Shirmardi H.A. 2017. Effect of elevation and phonological stages on essential oil composition of *Stachys*. *Turkish Journal of Biochemistry (Turk Biokimya Dergisi)* 42(6): 647-656.
- 4- Argyropoulou C., Daferera D., Tarantilis P.A., Fasseas C., and Polissiou M. 2007. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(12): 831-837.
- 5- 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)
- 6- Azizi A., Hadian J., Gholami M., Friedt W., and Honermeier B. 2012. Correlations between genetic, morphological, and chemical diversities in a germplasm collection of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. *Chemistry and Biodiversity* 9(12): 2784-2801.
- 7- Bigdeloo M., Nazeri V., and Hadian J. 2013. Study on effect of some environmental factors on morphological traits and essential oil productivity of *Thymus caramanicus* Jas. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 28(4): 756-766. (In Persian)
- 8- British pharmacopoeia. 1988. Vol. 2, London, HMSO Pp: A137-A138.
- 9- Fathalipoor Z., Nabati Ahmadi D., Rajabi Memari H., Siyahpoosh A., and Seddighi Dehkordi F. 2014. Determination of plant variation using morphological properties and cluster analysis in *Anethum* germplasms. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)* 37(4): 57-67. (In Persian)
- 10- Jamzad Z. 2012. Flora of Iran: Lamiaceae. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran p: 234. (In Persian)
- 11- Khalighi-Sigaroodi F., Ahvazi M., Yazdani D., and Kashefi M. 2012. Cytotoxicity and antioxidant activity of five plant species of Solanaceae family from Iran. *Journal of Medicinal Plants* 11(43): 41-53.
- 12- McLafferty F.W., and Stauffer D.B. 1989. Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data. 7 Volume Set. Wiley, New York.
- 13- Mohammadi A., Mazandarani M., and Asghari J. 2016. Echophytochemical, antioxidant and ethnopharmacological properties of *S. inflata* Benth. extract from Chahar Bagh mountain. *Medical Laboratory Journal* 10(3): 43-47.
- 14- Moraes de souza R.A., Oldoni T.L.C., Regitano-D'Arce M.A.B., and Alencar S.M. 2008. Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in Brazil. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria* 6(1): 7-41.
- 15- Morteza-Semnani K., Akbarzadeh M., and Changizi Sh. 2006. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, *S. inflata*, *S. lavandulifolia* and *S. laxa* from Iran. *Flavour and Fragrance Journal* 21(2): 300-303.
- 16- Mozaffarian V. 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran p: 522. (In Persian)
- 17- Nemeth E., and Bernath J. 2008. Biological activities of yarrow species (*Achillea spp.*). *Current Pharmaceutical Design* 14(29): 3151-3167.
- 18- Norouzi-Arasi H., Yavari I., and Alibabaei M. 2004. Chemical constituents of the essential oil of *Stachys*

- schtschegleevii* Sosn. from Iran. Journal of Essential Oil Research 16(3): 231-232.
- 19- Omidbaigi R. 2013. Approaches of production and products of medicinal plants. Vol. 1, 7th edition, Tehran, Tarrahan-e-Nashr p. 154. (In Persian)
- 20- Ozkan G., Sagdic O., Ekici L., Ozturk I., and Ozcan M.M. 2007. Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract and its antioxidant and antibacterial activities. Journal of Food Lipids 14(2): 157-169.
- 21- Rechinger K.H., and Hedge I.C. 1982. Flora Iranica. Akademische Druck Verlagsanstalt, Graz, Austria Pp: 150, 359, 360, 361, 365.
- 22- Sajjadi S.E., and Somae M. 2004. Chemical composition of the essential oil of *Stachys inflata* Benth. from Iran. Chemistry of Natural Compounds 40(4): 378-380.
- 23- Santos-Gomes P.C., Fernandes-Ferreira M., and Vicente A.M.S. 2005. Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. Journal of Essential Oil Research 17(1): 73-78.
- 24- Statistical Center of Iran. 2012. Statistical Yearbook of Hamedan Province, Chapter 1. [In Farsi]
- 25- Yavari A., and Shahgolzari S.M. 2013. Chemical composition of the essential oil of *Stachys inflata* Benth. from Iran. Asian Journal of Plant Science and Research 3(2): 62-65.



Evaluation of Morphological and Phytochemical Characteristics Changes in Different Populations of *Stachys inflata* Benth. in Hamedan Province

M. Salehi^{1*} – R. Kalvandi²

Received: 02-03-2019

Accepted: 01-07-2020

Introduction: Medicinal plants are rich sources of the main active substances in many drugs. Although the production of secondary metabolites is controlled by genes, their production are considerably influenced by environmental conditions, so that environmental factors cause changes in the growth of medicinal plants as well as the amount of active substances. In different habitats, physiological, morphological and genetically variations are seen in populations of species. These variations are created in response to contrasting environmental conditions. Studies of population in many plant species regarding to the pattern of variation have showed the occurrence of localized populations which adapted to the particular ecological conditions of their habitat. Iran as a center of diversity of *Stachys* houses about 35 species. The majority of species prefers alpine and subalpine habitats and grows under various ecological conditions in habitats like rocky places, mountain steppes, and stream banks or sometimes in forests. *S. inflata* Benth. is a medicinal plant from Lamiaceae family which is used extensively in folk and traditional remedies to treat infection, asthma, rheumatism and other inflammatory diseases.

Materials and Methods: This study was conducted to evaluate the morphological and phytochemical diversity of seven populations of *S. inflata* Benth. from different districts of Hamedan province in 2017. Traits such as plant height, stem diameter, leaf length and width, fresh and dry weight of floral branch, inflorescence length, fresh and dry weight of flower, essential oil percentage and phenol and flavonoid content were measured. In order to investigate physical and chemical properties of soil, soil samples were collected from a depth of 30 cm. Then they were transferred to the soil laboratory. Plants samples were collected in flowering stage and were dried in 25-30 °C. They were stored in envelopes in 22±3 °C away from the sun. For extracting essential oil, 50 gr of shoots were milled and then mixed with distilled water. This process lasted for three hours. Main components of essential oil were identified and determined by gas chromatography. The grouping of populations based on morphological and phytochemical traits was done by cluster analysis. The correlation between the elevations of studied areas above the sea level and soil properties was also done by Pearson method.

Results and Discussion: The results showed that the highest essential oil content was related to Avarzaman, Aznaveleh and Koohani populations (0.2%) and the lowest amount was obtained from Asadabad (0.11%). Although 22 compounds were identified in the essential oil, there was a great deal of variation in the percentage and type of components of the essential oil in the studied populations. The main components of essential oil were Spathulenol (26.25%), Octanol acetate (14.03%), Germacrene D (13.96%), Incensole acetate (13.41%), Bicyclogermacrene (10.66%) and Phytol (9.52%). Avarzaman population had the highest total phenol (141.9 mg GAE/gr) and flavonoid content (109.4 mg routine/gr) and the lowest content of phenol (86.9 mg GAE/gr) and flavonoid (68.8 mg routine/gr) was related to Asadabad and Koohani populations respectively. Avarzaman had the highest plant height (47.2 cm) and was significantly differed with other populations. The highest dry weight of floral branches (1.16 mm) was related to Asadabad population that was not significantly differed with Aznaveleh and Avarzaman population and the lowest dry weight of floral branch (0.57 mm) was observed in Koohani population. There was a significant negative correlation (-0.86) between the height of the studied habitats and the level of phosphorus in these areas. According to the morphological traits dendrogram analysis, seven studied populations were divided into two main groups. The populations of Avarzaman, Ekbatan, Ghazi Khan, Aznaveleh and Asadabad were in group A and Koohani and Gammasiab populations were in group B. Based on phytochemical traits dendrogram analysis, the populations of Ekbatan, Ghazi Khan, Asadabad, Koohani and Gammasiab were in group A and Avarzaman population was in group B.

Conclusion: In this study, the highest amount of essential oil content was obtained from populations which

1- Assistant Professor of Horticultural Sciences and Engineering Department, University of Nahavand

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

2- Assistant Professor, Natural Resources Research Division, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education Organization (AREEO), Hamedan, Iran

were collected from areas with the lowest elevation above the sea level. The soil of these areas had more phosphorous content. Therefore, the environmental factors as well as genetic factors have contributed in creating diversity in morphological and phytochemical characteristics of this plant.

Keywords: Essential oil, Flavonoid, Phosphorous, Total phenol



مقاله علمی-پژوهشی

انتخاب بستر کشت بهینه جهت پرورش گیاه ژربرا (*Gerbera jamesonii*) در سیستم کشت هیدروپونیک

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۱

چکیده

با توجه به وقوع خشکسالی‌های پی‌درپی در کشور و لزوم مصرف بهینه آب، بکارگیری فناوری‌های نوین نظیر سیستم‌های کشت هیدروپونیک بسته به منظور افزایش کارایی مصرف کود و آب نقش موثری در کاهش هزینه‌های تولید و افزایش عملکرد در واحد سطح خواهد داشت که در این میان انتخاب بستر کشت مناسب می‌تواند بسیار تاثیرگذار باشد. لذا پژوهش حاضر با هدف انتخاب بستر کشت بهینه جهت پرورش گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا در سیستم کشت هیدروپونیک بسته انجام شد. گیاهچه‌ها پس از طی نمودن مرحله سازگاری در سیستم‌های مختلف کشت گردیدند؛ سیستم بستر کشت یکپارچه به صورت سیستم بسته حاوی بسترهای کشت مختلف (پرلیت شکری، ورمی کولیت، ورمی کولیت: پرلیت، کوکوپیت: پرلیت، پشم سنگ) و سیستم کشت هیدروپونیک NFT^۶ به صورت سیستم بسته انجام شد. آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار (کوکوپیت: پرلیت، ورمی کولیت: پرلیت، پشم سنگ، ورمی کولیت، پرلیت شکری) در بستر کشت یکپارچه به صورت سیستم بسته، سیستم کشت هیدروپونیک NFT به صورت سیستم بسته (بسته) در ۶ تکرار انجام شد. طی یک دوره ۶ ماهه پارامترهای مختلف رشدی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گیاهچه‌های کشت شده در بستر کشت ورمی کولیت و ورمی کولیت: پرلیت در مقایسه با سایر بسترهای کشت سریعتر وارد مرحله زایشی شدند و تعداد گل بیشتری را نیز تولید نمودند. گیاهچه‌های کشت شده در بستر کشت پشم سنگ عملکرد مطلوبی را از خود نشان ندادند که احتمالاً تنش خشکی وارده بر گیاهان دلیل این امر می‌تواند باشد. همچنین از آنجا که گیاه ژربرا دارای ریشه‌های حجیمی می‌باشد، ریشه‌های این گیاه در سیستم NFT نتوانستند بخوبی توسعه پیدا کنند، لذا کاربرد سیستم NFT نیز جهت پرورش گیاه ژربرا مناسب نمی‌باشد. بهترین عملکرد نمونه‌های گیاهی در بستر کشت ورمی کولیت حاصل شد ولی با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار این بستر کشت با بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت، به منظور کاهش هزینه‌های تولید، کاربرد بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت در سیستم بسته جهت پرورش گیاه ژربرا توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: سیستم هیدروپونیک بسته، سیستم NFT، قطر طبق گل، بستر کشت یکپارچه

مقدمه

که از جمله مهم‌ترین آنها پرلیت، پشم سنگ، ورمی کولایت، ماسه، کوکوپیت و پوکه صنعتی می‌باشند (۹، ۱۱، ۱۸، ۲۰ و ۲۳). با این حال بستر کشتی مناسب‌تر می‌باشد که تخلخل مناسبی داشته باشد، ظرفیت نگهداری آب آن بالا باشد، زهکشی مناسبی داشته باشد و ساختار فیزیکی آن نیز مطلوب باشد (۱۸). لذا با توجه به خصوصیات یاد شده، این عامل می‌تواند به طور مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و عملکرد گیاه تاثیرگذار باشد. بنابراین یکی از مهم‌ترین فاکتورها در ایجاد یک سیستم کشت بدون خاک بهینه، انتخاب بستر کشت مناسب می‌باشد (۲۴).

از سوی دیگر، اکثر سیستم‌های کشت گلخانه‌ای به صورت سیستم‌های باز طراحی می‌شوند، به طوریکه مازاد محلول غذایی از بستر کشت خارج می‌شود. در این نوع کشت به منظور تثبیت غلظت و pH محلول غذایی در ناحیه ریشه گیاه و همچنین جهت تنظیم

کشت بدون خاک، پایه و اساس تکنیک‌های باغبانی مدرن می‌باشد. در سیستم‌های کشت بدون خاک، بسترهای کشت مختلفی جهت پرورش گیاهان زینتی از جمله ژربرا مورد استفاده قرار می‌گیرد

۱، ۲، ۴ و ۵ - استادیاران و مربیان، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی
(*) - نویسنده مسئول: (Email: ahmadsharifi66@yahoo.com)

۳ - دانشجوی مقطع دکتری رشته بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.79193

۶ - سیستم لایه نازک عناصر غذایی یا Nutrient Film Technique
7- Nutrient Film Technique

گلخانه‌ای باشد. از این رو در پژوهش حاضر سیستم‌های مختلف کشت به منظور انتخاب سیستم کشت بهینه جهت پرورش گیاه ژربرا مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی اجرا گردید. بدین منظور از گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا رقم Sunway استفاده گردید. گیاهچه‌ها پس از طی نمودن مرحله سازگاری در سیستم‌های مختلف کشت به شرح ذیل کشت گردیدند: الف: سیستم بستر کشت یکپارچه حاوی بسترهای کشت مختلف (پرلیت شکری، ورمی کولیت، ورمی کولیت: پرلیت، کوکوپیت: پرلیت، پشم سنگ) و آبیاری قطره‌ای روزانه سه مرتبه و هر بار به مدت ۶ دقیقه به صورت سیستم بسته (استفاده مجدد از آب زهکش).

ب: سیستم کشت هیدروپونیک NFT به صورت سیستم بسته (استفاده مجدد از آب زهکش)، به طوریکه هر ۲/۵ دقیقه یک مرتبه آبیاری به مدت یک دقیقه انجام می‌شد.

جهت بهینه‌سازی میزان عناصر موجود در محلول غذایی، از شاخص EC استفاده گردید. بدین ترتیب که با اندازه‌گیری شاخص EC به صورت هفتگی، غلظت عناصر غذایی موجود در محلول غذایی مورد ارزیابی قرار می‌گرفت و با کاهش میزان EC، محلول غذایی جدید به سیستم اضافه می‌گردید تا شاخص EC در حد بهینه باقی بماند. جهت تغذیه نمونه‌های گیاهی از ترکیب کودی توصیه شده توسط برس و همکاران (۴) به شرح ذیل استفاده گردید: K_2SO_4 (۰/۲۲)، KNO_3 (۳/۶۲)، KH_2PO_4 (۰/۷۱)، $NH_4H_2PO_4$ (۰/۳۵)، NH_4NO_3 (۰/۵۳)، $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (۱/۴۸)، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (۰/۴)، $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ (۰/۰۰۴۹)، H_3BO_3 (۰/۰۰۲۰)، $ZnSO_4$ (۰/۰۰۶۱)، $5H_2O$ (۰/۰۰۴۸)، $CuSO_4$ (۰/۰۰۳۴۸)، $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (۰/۰۰۵۸)، Na_2EDTA (۰/۰۳۸۴). قابل ذکر است که مقادیر ذکر شده به میلی مولار می‌باشد.

آزمایش بصورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار در ۶ تکرار انجام شد. طی یک دوره ۶ ماهه پارامترهای رشدی گیاهان از جمله تعداد برگ تولیدی (شمارش تعداد برگ در هر گیاه در پایان دوره)، طول دمبرگ (اندازه‌گیری با استفاده از خط کش مدرج در پایان دوره)، وزن تر و خشک اندام هوایی (با استفاده از ترازوی دیجیتال)، درصد کلروز برگ، درصد نکروز برگ، تعداد گل (شمارش تعداد گل در هر گیاه در پایان دوره)، قطر طبق گل (با استفاده از کولیس دیجیتال)، ارتفاع ساقه گل دهنده (اندازه‌گیری با استفاده از خط کش مدرج در پایان دوره)، تعداد روز تا آغاز گلدهی، قطر انتهایی ساقه گل دهنده (با استفاده از کولیس دیجیتال) و قطر وسط ساقه گل دهنده (با استفاده

رطوبت بستر، حجم محلول غذایی مورد استفاده بیشتر از نیاز تغذیه‌ای گیاه در نظر گرفته می‌شود (۸). به طوریکه روزانه حدود ۲۵ درصد از محلول غذایی مورد استفاده در سیستم‌های باز گلخانه‌ای به طور مستقیم از بستر کشت وارد خاک می‌گردد. این بدین معناست که در طی کشت گلخانه‌ای گیاه ژربرا در گلخانه‌ای به مساحت یک هکتار، روزانه بین ۱/۶ تا ۱۱/۴ مترمکعب محلول غذایی از طریق زهکش از بستر کشت خارج می‌شود (۴)، که اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی موجود در زه‌آب در گلخانه تحت پرورش گیاه ژربرا نشان می‌دهد سالانه حدود ۹۳ کیلوگرم بر هکتار نیتروژن، ۶/۸ کیلوگرم بر هکتار فسفر، ۱۶۵ کیلوگرم بر هکتار پتاسیم و ۱۰۷ کیلوگرم بر هکتار کلسیم به محیط آزاد می‌شود که تمامی این شواهد دال بر برتری سیستم بسته نسبت به سیستم‌های باز هیدروپونیک می‌باشد (۱۰).

بنابراین به منظور کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی، سیستم‌های کشت هیدروپونیک چرخشی (بسته) جایگزین سیستم‌های غیرچرخشی (باز) شده‌اند (۱۰). سیستم‌های بسته در مقایسه با سیستم‌های باز از لحاظ رعایت نکات بهداشتی و مدیریت تغذیه‌ای نیاز به دقت و توجه بیشتری دارند (۳۱). هنگامیکه عناصر غذایی موجود در محلول غذایی کاهش می‌یابد، به منظور جلوگیری از کمبود عناصر غذایی، محلول جدید جایگزین محلول قدیمی خواهد شد (۱۵). با این حال چرخش محلول غذایی می‌تواند باعث ایجاد مشکلاتی از جمله عدم تعادل عناصر غذایی، افزایش هدایت الکتریکی و تجمع سمی برخی از عناصر و به دنبال آن کاهش عملکرد گردد که مدیریت صحیح تغذیه‌ای می‌تواند این مشکلات را مرتفع سازد (۳۱).

از جمله سیستم‌های کشت هیدروپونیک که محلول غذایی در آن بصورت چرخشی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد، سیستم NFT می‌باشد. در این سیستم یک لایه نازک محلول غذایی در اختیار ریشه گیاه قرار می‌گیرد که تاثیر قابل توجهی در کاهش میزان کود و آب مصرفی دارد (۲۵). تحقیقات آسکر (۲) بر روی گیاه لیلیوم حاکی از تاثیر مطلوب سیستم کشت NFT بر روی رشد و گلدهی این گیاه بود. گیاهان پرورش یافته تحت این سیستم، در طی یک دوره ۵۵ روزه وارد مرحله زایشی شدند و از لحاظ گلدهی کیفیت مناسبی را دارا بودند. همچنین در پایان دوره، کاربرد سیستم فوق منجر به تولید تعداد زیادی پیاز دختری بر روی ساقه اصلی گیاه شد. مطالعات اینسمتوگلو و همکاران (۱۴) بر روی گیاه توت فرنگی نیز نشان داد که پرورش این گیاه تحت سیستم NFT تاثیر مطلوبی بر پارامترهای رشد رویشی و زایشی این گیاه داشت.

با توجه به اینکه یکی از معضلات پیش روی کشور، مشکل کم آبی و خشکسالی می‌باشد، لذا بکارگیری فناوری‌های نوین نظیر سیستم‌های کشت بسته به منظور مصرف بهینه کود و آب، می‌تواند گامی موثر در جهت بهبود راندمان مصرف آب و کود در کشت‌های

نتایج

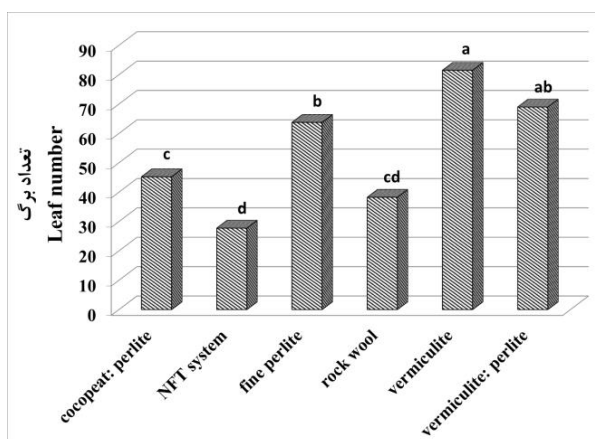
نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر تعداد برگ تولیدی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p \leq 0.01$). گیاهچه‌هایی که در بستر کشت یکپارچه ورمی‌کولیت کشت شده بودند، بیشترین تعداد برگ را تولید نمودند ولی با این حال تفاوت معنی‌داری با گیاهچه‌های کشت شده در بستر کشت یکپارچه ورمی‌کولیت: پرلیت نداشتند. کمترین تعداد برگ تولیدی نیز در گیاهچه‌های کشت شده در سیستم NFT مشاهده شد. همچنین گیاهچه‌های کشت شده در بستر کشت یکپارچه پشم سنگ تفاوت معنی‌داری با سیستم NFT نداشتند که در این رابطه تنش خشکی وارده بر گیاهان و به دنبال آن رشد ضعیف نمونه‌های گیاهی باعث کاهش تعداد برگ تولیدی شده است.

از کولیس دیجیتالی مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور اندازه‌گیری میزان درصد برگ‌های نکروزه، تعداد برگ‌های نکروزه شده در پایان آزمایش شمارش شدند و بر تعداد کل برگ‌های گیاه تقسیم شدند (۳). در رابطه با درصد برگ‌های نکروزه نیز از همین روش استفاده گردید.

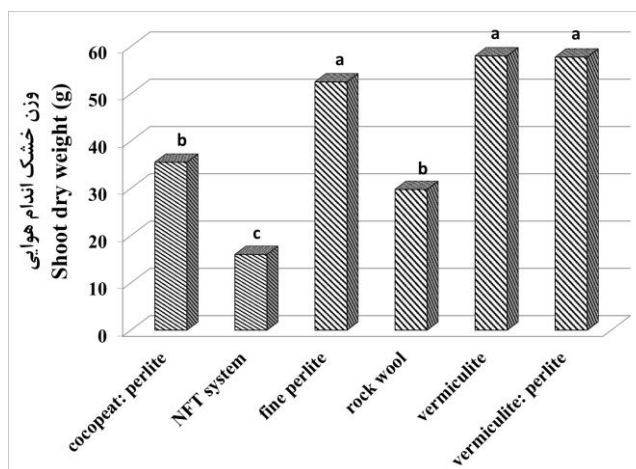
تجزیه و تحلیل‌های آماری

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.



شکل ۱- اثر نوع بستر کشت بر تعداد برگ تولیدی گیاه ژربرا رقم Sunway در سیستم کشت هیدروپونیک

Figure 1- The effect of cultivation media on number of produced leaves of gerbera cv. Sunway in hydroponic cultivation system (LSD, $p \leq 0.05$)



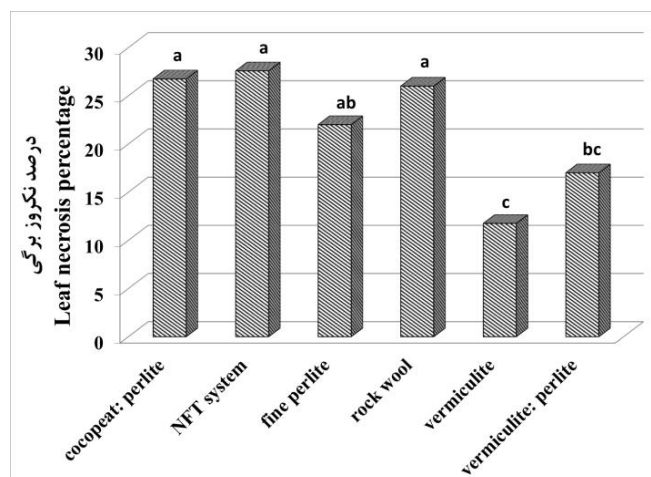
شکل ۲- اثر نوع بستر کشت بر وزن خشک اندام هوایی گیاه ژربرا رقم Sunway در سیستم کشت هیدروپونیک

Figure 2- The effect of cultivation media on shoot dry weight of gerbera cv. Sunway in hydroponic cultivation system (LSD, $p \leq 0.05$)

($p \leq 0.01$). درصد نکروز برگ‌گی در سیستم NFT بیش از دو برابر مقدار اندازه‌گیری شده در بستر کشت یکپارچه ورمی‌کولیت بود. بین بسترهای کشت یکپارچه کوکویت: پرلیت، پرلیت شگری، پشم سنگ و سیستم NFT تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین کمترین میزان نکروز برگ‌گی در بستر کشت یکپارچه ورمی‌کولیت حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با بستر کشت یکپارچه ورمی‌کولیت: پرلیت نداشت. پایین بودن میزان نکروز برگ‌گی در تیمارهای یاد شده نشان دهنده جذب مطلوب عناصر غذایی و رشد مناسب گیاهچه‌ها در این بسترها می‌باشد.

در پایان آزمایش وزن خشک اندام هوایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاکی از تاثیر معنی‌دار تیمارها بر این صفت بود ($p \leq 0.01$). سنگین‌ترین گیاهچه‌ها از لحاظ وزن خشک اندام هوایی به ترتیب در بسترهای کشت یکپارچه ورمی‌کولیت، ورمی‌کولیت: پرلیت و پرلیت شگری حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. کمترین میزان این صفت نیز در سیستم NFT مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. چنین به نظر می‌رسد که تنش خشکی می‌تواند دلیل اصلی کاهش وزن گیاهچه‌ها در این تیمار باشد.

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای آزمایش تاثیر معنی‌داری بر درصد کلروز برگ‌گی نداشتند ($p \leq 0.05$), ولی درصد نکروز برگ‌گی در گیاهچه‌ها تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت



شکل ۳- اثر نوع بستر کشت بر درصد نکروز برگ‌گی گیاه ژربرا رقم Sunway در سیستم کشت هیدروپونیک

Figure 3- The effect of cultivation media on leaf necrosis percentage of gerbera cv. Sunway in hydroponic cultivation system (LSD, $p \leq 0.05$)

ورمی‌کولیت: پرلیت کمترین تعداد روز جهت آغاز گلدهی مورد نیاز بود، این در حالی است که بیشترین تعداد روز جهت ورود به مرحله زایشی در سیستم NFT و پشم سنگ مشاهده گردید. دو سیستم اخیر (سیستم NFT و پشم سنگ) از لحاظ تعداد برگ تولیدی و وزن خشک اندام هوایی کمترین میانگین‌ها را به خود اختصاص داده بودند که این امر نشان از ظرفیت فتوسنتزی پایین تر و به دنبال آن تاخیر در ورود به مرحله زایشی در مقایسه با سایر بسترهای کشت مورد ارزیابی می‌باشد.

اندازه‌گیری قطر انتها و وسط ساقه گل دهنده بیانگر تاثیر معنی‌دار تیمارهای مورد آزمایش بر این پارامترها بود. بالاترین میانگین‌ها در رابطه با این پارامترها در سیستم‌های کشت حاوی بستر کشت ورمی‌کولیت: پرلیت، پرلیت شگری و ورمی‌کولیت مشاهده شد. کمترین

شمارش تعداد گل تولیدی در تیمارهای آزمایش نشان داد که این صفت تحت تاثیر نوع بستر کشت قرار گرفت. کاربرد سیستم کشت بسته حاوی بستر کشت ورمی‌کولیت: پرلیت و ورمی‌کولیت منجر به تولید بیشترین تعداد گل تولیدی شد. در سیستم NFT کمترین تعداد گل تولیدی با میانگین ۲/۵ عدد برداشت شد که اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر بسترهای کشت مورد استفاده داشت. تعداد گل تولیدی در این سیستم بیش از ۳/۵ برابر کمتر از سیستم‌های کشت بسته حاوی ورمی‌کولیت: پرلیت و ورمی‌کولیت بود. سایر بسترهای کشت مورد استفاده از قبیل کوکویت: پرلیت، پشم سنگ و پرلیت شگری اختلاف آماری معنی‌داری از این لحاظ با یکدیگر نداشتند.

سرعت ورود به مرحله زایشی نیز تحت تاثیر نوع بستر کشت قرار گرفت. در سیستم‌های کشت بسته حاوی بستر کشت ورمی‌کولیت و

میزان قطر انتها و وسط ساقه گل دهنده نیز در سیستم کشت NFT به دست آمد. با توجه به اینکه در این سیستم گیاهچه ها رشد رویشی مطلوبی نداشتند، لذا فاقد پتانسیل کافی برای تولید ساقه های گل دهنده قوی بودند و در مقایسه با سایر تیمارها ساقه های ضعیف تری را تولید نمودند.

جدول ۱- تاثیر بسترهای کشت مختلف بر پارامترهای رشد زایشی گیاه ژربرا رقم Sunway در سیستم کشت هیدروپونیک
Table 1- The effect of different cultivation media on reproductive growth parameters of gerbera cv. Sunway in hydroponic cultivation system

بستر کشت Culture medium	تعداد گل تولیدی No of flower	تعداد روز تا آغاز گلدهی Number of days to flowering	قطر انتهایی ساقه گل دهنده end diameter of stalk	قطر وسط ساقه گل دهنده middle diameter of stalk
پرلیت Perlite	5.25 b	90.25 ab	5.42 ab	7.05 bc
ورمی کولیت Vermiculite	9.00 a	81.00 b	5.40 ab	7.44 a
ورمی کولیت: پرلیت Vermiculite: perlite	9.25 a	81.75 b	5.74 a	7.29 ab
کوکوپیت : پرلیت Cocopeat: perlite	5.50 b	89.87 ab	5.10 bc	6.71 c
پشم سنگ Rock wool	5.16 b	95.00 a	5.02 bc	6.70 c
سیستم NFT NFT system	2.50 c	97.50 a	4.62 c	5.95 d

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.

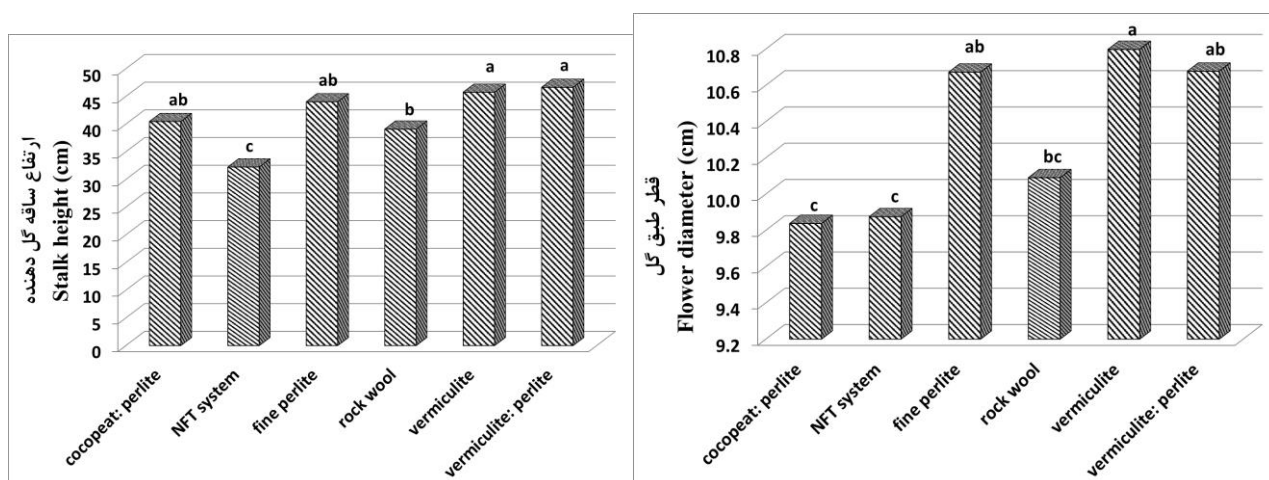
بحث

در طی سال های اخیر کشت بدون خاک محصولات زینتی به سمت سیستم های آبیاری بسته سوق داده شده است. مزیت اصلی کشت های بسته، محدودیت آلودگی آب های سطحی و زیرزمینی می باشد. علاوه بر این چرخش مجدد زه آب حاوی محلول غذایی، منجر به صرفه جویی قابل توجه در میزان کود مصرفی می گردد (۲۷). با این حال پاسخ گونه های مختلف گیاهی به استفاده پیوسته از محلول زه آب می تواند متفاوت باشد (۲۸).

در مطالعه انجام شده توسط هان و همکاران (۱۱)، اثر نوع سیستم کشت بر میزان رشد و گلدهی گیاهچه های کشت بافتی دو رقم ژربرا مورد ارزیابی قرار گرفت. گیاهچه ها در دو سیستم کشت متفاوت، کشت خاکی و کشت در بسترهای کشت ورمی کولیت، پرلیت، کوکوپیت و پشم سنگ (بصورت سیستم بسته) کشت گردیدند. نتایج نشان داد در رقم Ensophy، کاربرد بستر کشت پشم سنگ نتایج بهتری را در رابطه با صفات قطر گل، ارتفاع ساقه گل دهنده و وزن گیاه در پی داشت، این در حالی است که نتایج پژوهش حاضر حاکی از تاثیر نامطلوب بستر کشت پشم سنگ بر این صفات می باشد که دلیل آن می تواند تفاوت در دور آبیاری به کار رفته در دو آزمایش باشد.

نتایج تجزیه واریانس داده های آزمایش بیانگر تاثیر معنی دار تیمارهای مورد آزمایش بر قطر طبق گل بود. کاربرد سیستم های کشت حاوی بستر کشت ورمی کولیت، ورمی کولیت: پرلیت و پرلیت شکری منجر به تولید گل هایی با طبق بزرگ تر در مقایسه با سایر تیمارهای مورد بررسی شد. از آنجا که بستر کشت پرلیت شکری ظرفیت نگهداری آب پایینی دارد، کاربرد سیستم بسته در رابطه با این بستر کشت تاثیر بسیار مطلوبی بر گیاهچه های تولیدی داشت و قطر گل تولید شده اختلاف معنی داری با برترین تیمار نداشت که دلیل آن می تواند رطوبت کافی بستر و دسترسی مطلوب به عناصر غذایی در سیستم بسته پرلیت شکری باشد. گل های تولید شده در سیستم های NFT و کوکوپیت: پرلیت کمترین میانگین ها را به خود اختصاص دادند.

پس از برداشت گل های شاخه بریده، ارتفاع ساقه گل دهنده نیز مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج حاکی از تاثیر معنی دار تیمارهای آزمایش بر این صفت بود. طول ترین ساقه های گل دهنده در سیستم بسته حاوی بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت و ورمی کولیت مشاهده شد که تفاوت معنی داری با سیستم حاوی بستر کشت پشم سنگ و سیستم NFT داشتند. از سوی دیگر کوتاه ترین ساقه های گل دهنده در سیستم NFT حاصل شد که در مقایسه با سیستم حاوی بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت، ۴۴ درصد کاهش ارتفاع مشاهده شد.



شکل ۴- اثر نوع بستر کشت بر قطر طبق گل و ارتفاع ساقه گل دهنده گیاه ژربرا رقم Sunway در سیستم کشت هیدروپونیک
Figure 4- The effect of cultivation media on flower diameter and stalk height of gerbera cv. Sunway in hydroponic cultivation system (LSD, $p \leq 0.05$)

بر برتری بستر کشت ورمی کولیت در مقایسه با بستر کشت پرلیت مطابقت دارد.

اسمیت (۳۰) گزارش کرد که در بستر پشم سنگ عملکرد سالانه افزایش می‌یابد و گیاهان ژربرا برای کشت شده در این بستر کشت به مدت بیشتری در حالت رشد فعال باقی می‌مانند. با این حال نتایج پژوهش حاضر حاکی از تاثیر مطلوب بسترهای کشت ورمی کولیت و ورمی کولیت: پرلیت بر صفات قطر گل، ارتفاع گیاه و وزن گیاه بود و کاربرد بستر کشت پشم سنگ در رابطه با صفات یاد شده چندان رضایت بخش نبود. از آنجا که دور آبیاری در سیستم بسته مورد آزمایش، برای تمامی بسترها بطور یکسان در نظر گرفته شده بود، لذا چنین به نظر می‌رسد که احتمالا تنش خشکی وارد شده به گیاهان تحت تیمار پشم سنگ دلیل این امر می‌تواند باشد.

مالوپا و همکاران (۲۱) به منظور تعیین بستر کاشت مناسب و تاثیر آن بر عملکرد و کیفیت گل ژربرا آزمایشی با چهار رقم و چهار نوع بستر کاشت شامل پشم سنگ، پرلیت، زئولیت و ماسه انجام دادند. نتایج آزمایش نشان داد که عملکرد گیاهان در بستر پشم سنگ کمتر از بسترهای مورد مطالعه دیگر بود که با نتایج پژوهش حاضر مطابق می باشد. همچنین نتایج پژوهش آنها نشان داد که طولی‌ترین ساقه در بستر کشت حاوی پرلیت مشاهده شد. در مطالعه حاضر نیز گیاهان پرورش یافته در بستر کشت پرلیت از ارتفاع مطلوبی برخوردار بودند.

نتایج پژوهش حیدری و همکاران (۱۳) بر روی گیاه کارلا (*Momordica charantia* L.) نشان داد که کاربرد بسترهای کشت مختلف تاثیر معنی داری بر صفات رشدی و عملکردی این گیاه داشت و بیشترین ارتفاع بوته، وزن تر بوته، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و تعداد میوه در بوته و عملکرد در تیمار ورمی کولیت: پرلیت و ورمی

همچنین نتایج پژوهش هان و همکاران (۱۱) نشان داد که در رابطه با رقم Estel، کاربرد انواع مختلف بستر کشت تفاوت معنی داری را در رابطه با صفات یاد شده در پی نداشت. تعداد گل در هر گیاه، ارتفاع ساقه گل دهنده، وزن گل، قطر گل در هر دو رقم، در سیستم بستر کشت به مراتب بهتر از سیستم کشت خاکی بود. کاربرد بسترهای کشت پرلیت و ورمی کولیت در مقایسه با بسترهای کشت کوکوپیت و پشم سنگ منجر به افزایش تعداد گل تولیدی گردید و کمترین تعداد گل تولیدی در گیاهان پرورش یافته در بستر کشت کوکوپیت حاصل شد. نتایج پژوهش حاضر نیز برتری بستر کشت ورمی کولیت و ورمی کولیت: پرلیت را از لحاظ تعداد گل تولیدی در مقایسه با سایر بسترهای کشت نشان داد. حسن زاده و همکاران (۱۲) گزارش کردند که ظرفیت جذب کاتیونی و ظرفیت نگهداری آب بالای بستر کشت ورمی کولیت می تواند عاملی موثر در افزایش جذب عناصر غذایی در این بستر کشت باشد. کاربرد سیستم NFT منجر به کاهش شدید تعداد گل تولیدی گردید و عملکرد گل شاخه بریده در بسترهای پشم سنگ، پرلیت و کوکوپیت: پرلیت چندان رضایت بخش نبود. احتمالا هدایت الکتریکی بالای بستر کشت کوکوپیت و تنش خشکی وارده به گیاهان در بسترهای کشت پرلیت و پشم سنگ می‌تواند عامل اصلی کاهش عملکرد در بسترهای فوق باشد.

در مطالعه انجام شده توسط کراس و همکاران (۷) بر روی گیاه *Portulaca oleracea* مشخص گردید که گیاهان پرورش یافته در بستر کشت ورمی کولیت از لحاظ ارتفاع گیاه، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، تعداد برگ و سطح برگ میانگین های بالاتری را نسبت به بستر کشت پرلیت از خود نشان دادند که با نتایج پژوهش حاضر مبنی

گیاهان قرار می‌گیرد، مواد مغذی و اکسیژن محلول در آن توسط گیاهان ابتدای خط مصرف شده و شیب غلظتی را ایجاد کرده که این امر سبب تفاوت در رشد گیاهان ابتدا و انتهای خط شده. علاوه بر این رشد ریشه گیاهان در داخل کانال می‌تواند مانعی در برابر عبور جریان مواد غذایی باشد و سرعت عبور محلول غذایی را کاهش دهد که این امر به نوبه خود نیز شیب غلظتی را ایجاد می‌کند (۱۶). لذا به دلیل هزینه اولیه بالا، خرابی سیستم و تجهیزات، مشکلات تغذیه‌ای و از دست رفتن نمونه‌های گیاهی به دلیل شیوع بیماری‌های ریشه‌ای، کاربرد این سیستم محدود شده است (۵).

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سیستم کشت NFT جهت پرورش گیاه ژربرا مناسب نمی‌باشد. در سیستم NFT تنها یک لایه نازک محلول غذایی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد. لذا کاربرد این سیستم برای گیاهانی با ریشه نرم و نازک نظیر کاهو مناسب می‌باشد و از آنجائیکه گیاه ژربرا دارای ریشه‌های حجیم و ضخیمی می‌باشد، در این سیستم ریشه‌ها نمی‌توانند به خوبی توسعه پیدا کنند. ریشه‌های این گیاه از لحاظ ساختاری نرم و انعطاف پذیر نمی‌باشند و هنگامیکه در معرض هوای خشک قرار می‌گیرند، به سرعت خشک شده و در دوره بعدی آبیاری نمی‌توانند به راحتی رطوبت را جذب کنند.

نتایج تحقیقات نیز نشان می‌دهد کاربرد سیستم‌های مبتنی بر چرخش پیوسته محلول غذایی نظیر NFT برای کشت محصولات با دوره رشدی طولانی مناسب نمی‌باشند که از دلایل آن می‌توان به عدم تعادل مواد غذایی در محلول چرخشی، تجمع ترکیبات آلی مضر مترشح از ریشه گیاه، محدودیت اکسیژن در محلول غذایی اشاره نمود که اثرات نامطلوبی بر رشد و عملکرد گیاه دارند (۱۷ و ۳۲). لذا با توجه به طولانی بودن دوره رشدی گیاه ژربرا، کاربرد این سیستم جهت پرورش این گیاه توصیه نمی‌گردد.

مالویا و همکاران (۲۲) نیز گزارش کردند در صورت استفاده از بستر مناسب کشت، سیستم‌های دارای بستر کشت در مقایسه با سایر سیستم‌های هیدروپونیک فاقد آن مناسب تر می‌باشند که با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر تاثیر نامطلوب سیستم کشت NFT بر گیاه ژربرا مطابق می‌باشد.

همچنین کاربرد بستر کشت یکپارچه پشم سنگ در سیستم بسته نتایج مطلوبی به دنبال نداشت که احتمالاً تنش خشکی وارده بر گیاهان دلیل آن می‌باشد. با توجه به اینکه در سیستم بسته یکپارچه، آبیاری روزی سه مرتبه به مدت شش دقیقه انجام می‌شد، به نظر می‌رسد این دور آبیاری برای بستر کشت پشم سنگ کافی نبوده و گیاهچه‌ها قادر به جذب مناسب محلول غذایی از بستر کشت نبوده‌اند. لذا نیاز است سیستمی طراحی گردد که با توجه به ظرفیت نگهداری آب هر بستر کشت، میزان مناسب محلول غذایی را در اختیار گیاه قرار دهد.

کولیت: کوکوپیت مشاهده شد که با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر برتری بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت مطابقت دارد.

از سوی دیگر، تحقیقات نشان می‌دهد که کوکوپیت ظرفیت تبادل کاتیونی بالایی دارد، قابلیت جذب آب و ظرفیت نگهداری آب بالایی دارد. همچنین نفوذپذیری آن نسبت به آب و هوا بالا می‌باشد (۲۹). ولی با تمامی این ویژگی‌ها، در برخی از گیاهان گلدار نظیر رز و لیلیوم تجمع کلسیم و منیزیم در بستر کشت کوکوپیت منجر به جذب ناکافی این عناصر توسط گیاه می‌گردد که در نتیجه موجب اختلال در رشد گیاه می‌شود. اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی اولیه در بستر کشت کوکوپیت نیز حاکی از بالا بودن میزان EC (2130 ms/cm) در این بستر کشت می‌باشد که این امر می‌تواند به نوبه خود بر پارامترهای رشدی گیاه تاثیرگذار باشد و منجر به رشد رویشی ضعیف نمونه‌ها و به دنبال آن کاهش تعداد گل تولیدی گردد که این یافته‌ها با نتایج پژوهش‌ها و همکاران (۱۱) منطبق می‌باشد.

نتایج مطالعه انجام شده بر روی گیاه لیلیوم نشان داد که عملکرد رشدی گیاه لیلیوم در سیستم کشت NFT رضایت بخش می‌باشد و در طی یک دوره ۵۵ روزه گیاهان وارد مرحله زایشی شدند (۲). قابل ذکر است که در پژوهش یاد شده از قالب‌های حجیم پشم سنگ با ابعاد $21 \times 49 \times 112$ سانتی متر برای هر گیاه استفاده گردید. این درحالی است که در سیستم NFT عموماً نیاز به استفاده از بستر کشت نمی‌باشد و در صورت نیاز، برای استحکام بیشتر گیاه تنها از قطعات کوچک پشم سنگ استفاده می‌گردد (۵ و ۲۵). از آنجا که گیاه لیلیوم کانوبی حجیم دارد و ریشه‌های آن توسعه زیادی می‌یابند، لذا کاربرد این سیستم نمی‌تواند جهت پرورش گیاه لیلیوم چندان موثر باشد و رشد مطلوب این گیاه را نمی‌توان به کاربرد سیستم NFT مرتبط ساخت. در واقع سیستمی که آسکر (۲) در پژوهش خود بکار برده است، مبتنی بر کاربرد بستر کشت می‌باشد که تفاوت اساسی با سیستم NFT دارد.

سیستم کشت NFT به طور گسترده‌ای جهت انجام امور تحقیقاتی استفاده می‌شود و در کشت‌های تجاری کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۵). این سیستم عموماً برای سبزیجات برگ‌ی نظیر کاهو استفاده می‌گردد (۱، ۱۹، ۲۶). هزینه‌های سرمایه‌گذاری جهت پیاده سازی این سیستم بالا می‌باشد و به دلیل عدم وجود بستر کشت، خاصیت باف‌ری این سیستم پایین می‌باشد که در نتیجه ریسک تولید در این نوع سیستم بالا می‌باشد (۲۵). همچنین جهت پیاده سازی این سیستم به مهارت‌های تکنیکی بالایی نیاز می‌باشد (۶). در این سیستم به دلیل غلظت پایین اکسیژن در محلول غذایی NFT و تجمع ناخواسته برخی از یون‌ها (نظیر یون سدیم، کلراید و سولفات) و عدم تعادل عناصر غذایی در محلول غذایی، خطر از بین رفتن محصول در این سیستم افزایش می‌یابد (۵).

همچنین از آنجا که محلول غذایی از طریق کانال در اختیار

نتیجه گیری

ژبرا در شرایط گلخانه، کاربرد بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت در سیستم بسته توصیه می گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهش و فناوری جهاد دانشگاهی جهت حمایت مادی و معنوی این طرح پژوهشی (با کد ۶۰۰۶-۲۰) تشکر و قدردانی می گردد.

به طور کلی بر اساس نتایج به دست آمده، بستر کشت ورمی کولیت، به عنوان بستر کشت بهینه جهت پرورش گیاه ژبرا شناخته شد ولی با توجه به گران قیمت بودن بستر کشت یاد شده در مقایسه با سایر بستر کشت های تولید داخل و همچنین عدم اختلاف معنی دار این بستر کشت با بستر کشت ورمی کولیت: پرلیت (در رابطه با بسیاری از صفات)، به منظور کاهش هزینه های تولید و پرورش گیاه

منابع

- 1- Al-Tawaha A.M., Al-Karaki Gh., Al Tawaha A.R.M., and Massadeh A. 2018. Effect of water flow rate on quantity and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in nutrient film technique (NFT) under hydroponics conditions. Bulgarian Journal of Agricultural Science 24(05): 793-800.
- 2- Asker H.M. 2015. Hydroponic technology for lily flowers and bulbs production using rainwater and some common nutrient solutions. African Journal of Biotechnolog, 14(29): 2307-2313.
- 3- Askari A.A., Imani A., Hadavi E., and Khodadadi M. 2019. Investigation the amount of macro and micro elements, chlorophyll content and chlorophyll index of selected almond cultivars on the GF677 and GF677 in alkali conditions. Journal of Plant Researc, 32(1): 112-121.
- 4- 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.
- 5- Challinor D.P., and Collison P. 2014. Review of hydroponic flower production and future opportunities for the UK industry. Project code: PO018. May Barn Consultancy LTD.
- 6- Christie E. 2014. Water and Nutrient Reuse within Closed Hydroponic Systems. MSc Thesis, Washington State University.
- 7- Cros V., Martínez-Sánchez J.J., and Franco J.A. 2007. Good yields of common purslane with a high fatty acid content can be obtained in a peat-based floating system. HortTechnology 17(1): 14-20.
- 8- De Pascale S. and Paradiso R. 1999. Water and nutrient uptake of roses growing in two inert media. In International Symposium on Growing Media and Hydroponics 548: 631-640.
- 9- Fakhri M., Maloupa E. and Gerasopoulos D. 1995. Effect of substrate and frequency of irrigation in yield and quality of three gerbera jamesonii cultivars, Acta Horticulture, (ISHS) 408: 41-45.
- 10- Ferrante A., Malorgio F., Pardossi A., Serra G. and Tognoni F. 2000. Growth, flower production and mineral nutrition in gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) plants grown in substrate culture with and without nutrient solution recycling. Advances in horticultural Science 14(3): 99-106.
- 11- Hahn E.J., Jeon M.W., and Paek K.Y. 1999. 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.
- 12- Hasan Zadeh M., Rusta H.R., Mirdehghan H. 2012. Influence of different culture media and sodium chloride on growth, yield and physiological properties of bell pepper in hydroponic system. MSc Thesis. Valiasr University of Rafsanjan - Faculty of Agriculture and Natural Resources (In Persian).
- 13- Heidari M., Ismailpour B., Torabi Giglo M., and Sheikhalipoor M. 2009. International Conference and the 6th National Conference on Organic and Conventional Agriculture, Ardabil, Mohaghegh Ardabili University (In Persian).
- 14- Incemehmetoglu A., Yildiz F., and Ozen C. 2012. Investigation the effect of different support medium on product with nutrient film technique in hydroponic plant growth. MSc Thesis, Biotechnology Department, Middle East Technical University.
- 15- Jeannequin B., and Fabre R. 1995. Techniques for the recycling or the reduction of waste nutrient solution in soilless cultivation. Plasticulture.
- 16- Jones J.B. 2005. The plant root: its roles and functions. Hydroponics: A Practical Guide for the Soilles Grower. CRS PRESS. USA. 19-28.
- 17- Jung V., Olsson E., Asp H., Jensen P., Caspersen S., and Alsanus B. 2001. Plant response of hydroponically grown tomato to phenolic compounds. In: Proceedings of the International Symposium on Growing Media and Hydroponics, September 8-14, Alnarp, Sweden, Abstracts, C13.
- 18- Khalaj M.A., Amiri M., and Azimi M.H. 2014. Effect of Different culture media on the nutrient absorption, Growth Characteristics, and Yield of gerbera in hydroponic culture. Journal of Horticulture Science 27(4): 470-479.

- 19- Khater E.S.G., and Ali S.A. 2015. Effect of flow rate and length of gully on lettuce plants in aquaponic and hydroponic systems. *Journal of Aquaculture Research & Development* 6(3): 1-5.
- 20- Maloupa E.L., Mitsios P.F., Martinez S., and Poulou B. 1993. Study of substrates used in Gerbera culture in plastic greenhouse, *Acta Horticulture (ISHS)* 323: 139-144.
- 21- Maloupa E., Traka-Mavrona K., Papadopoulos A., Papadopoulos F., and Pateras D. 1999. Wastewater re-use in horticultural crops growing in soil and soilless media. *Acta Horticulture* 181: 603-607.
- 22- Maloupa E., Abou Hadid A., Prasad M., and Kavafakis C.H. 2001. Response of cucumber and tomato plants to different substrates mixtures of pumice in substrate culture. *Acta Horticulture* 550: 593-599.
- 23- Marschner H. 2012. Mineral nutrition of higher plants, 3rd edn. Academic, London, UK.
- 24- Olympios C.M. 1999. Overview of soilless culture: advantages, constraints and perspectives for its use in Mediterranean countries. *Cahiers Options Méditerranéennes* 31(307-324): 2.
- 25- Pardossi A., Carmassi G., Diara C., Incrocci L., Maggini R., and Massa D. 2011. Fertigation and substrate management in closed soilless culture. Pisa: University of Pisa.
- 26- Puerta A.R., Sato S., Shinohara Y., and Maruo T. 2007. A modified nutrient film technique system offers a more uniform nutrient supply to plants. *HortTechnology* 17(2): 227-233.
- 27- Raviv M. Krasnovsky A., Medina S., and Reuveni R. 1998. Assessment of various control strategies for recirculation of greenhouse effluents under semi-arid conditions. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 73(4): 485-491.
- 28- Savvas D., and Gizas G. 2002. Response of hydroponically grown gerbera to nutrient solution recycling and different nutrient cation ratios. *Scientia Horticulturae* 96(1-4): 267-280.
- 29- Schwartz M. 1995. Soilless culture management. 1st ED. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- 30- Smith D.L. 1988. Rock wool in horticulture. 2nd ED. Grower books, London.
- 31- Van Os E.A. 1994. Engineering and environmental aspects of soilless growing systems. *Hydroponics and Transplant Production* 396 :25-32.
- 32- Zekki H., Gauthier L., and Gosselin A. 1996. Growth, productivity, and mineral composition of hydroponically cultivated greenhouse tomatoes, with or without nutrient solution recycling. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121(6): 1082-1088.



Selection of Optimal Cultivation Media for Gerbera (*Gerbera jamesonii*) Growth in the Hydroponic Culture System

M. Kharrazi¹- A. Sharifi^{2*}- S. Nejatizadeh³- A. Khadem⁴- M. Moradian⁵

Received: 02-03-2019

Accepted: 11-07-2020

Introduction: Considering the occurrence of successive droughts in our country and the necessity of optimal water consumption, the use of modern technologies such as closed systems to increase the efficiency of fertilizer and water use will have an effective role in reducing production costs and increasing yield. The Nutrient Film Technique (NFT) system is one of the hydroponic culture systems in which the nutrient solution is circulated continuously. In this system, a thin layer of nutrient solution will be available to the plant roots, which has a significant effect on reducing fertilizer and water consumption.

Materials and Methods: The present study was conducted to select an optimal system for cultivation of Gerbera plantlets. Plantlets were cultivated in different systems after the acclimation stage: Integrated bedding system as a closed system containing different culture media (Perlite, vermiculite, vermiculite: perlite, cocopeat: perlite and rock wool) and NFT hydroponic system as a closed system. For fertilization, the following fertilizer combination (mM) was used: K₂SO₄ (0.22), KNO₃ (3.62), KH₂PO₄ (0.71), NH₄H₂PO₄ (0.35), NH₄NO₃ (0.53), Ca (NO₃)₂·4H₂O (1.48), MgSO₄·7H₂O (0.4), MnCl₂·4H₂O (0.0049), H₃BO₃ (0.020), ZnSO₄ (0.0061), CuSO₄·5H₂O (0.00048), NaMoO₄·2H₂O (0.00058), FeSO₄·7H₂O (0.0348), Na₂EDTA (0.0384). The experiment was conducted in a completely randomized design with six treatments in six replicates. During six months, the growth parameters of the plants including number of leaves, petiole length, fresh and dry shoot weight, leaf chlorosis percentage, leaf necrosis percentage, flower number, flower diameter, flowering stem height, number of days to flowering, end diameter of the stalk and the middle diameter of the stalk were evaluated. 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 the Excel program.

Results and Discussion: The results showed that there was a significant difference between treatments for the number of leaves ($p < 0.01$). Seedlings cultivated in the vermiculite culture medium produced the highest number of leaves; however, there was no significant difference between seedlings cultured in vermiculite and vermiculite: perlite media. The lowest number of produced leaves was observed in plantlets grown in the NFT system. Also, the seedlings grown in the rock wool medium had no significant difference with the NFT system. In this regard, the drought stress on plants and the consequent poor growth of plantlets reduced the number of produced leaves. The percentage of necrotic leaves in the NFT system was more than twice the vermiculite culture medium. There was no significant difference between cocopeat: perlite, perlite, rock wool, and NFT systems. Also, the lowest amount of necrotic leaves was found in the vermiculite culture medium, which did not have a significant difference with vermiculite: perlite culture medium. Low levels of leaf necrosis in these treatments indicate the optimal absorption of nutrients and the proper growth of plantlets in these culture media. The results showed that plantlets cultivated in the vermiculite and vermiculite: perlite flowered more quickly than other culture media and also produced more flowers. Plantlets grown in the rock wool medium did not show the desirable performance, which is due to drought stress. Besides, the use of cocopeat in the culture medium did not have a beneficial effect on plants. Measuring the initial electrical conductivity in the cocopeat culture medium also indicates a high EC concentration in this culture medium, which could affect the growth parameters of the plant and lead to poor vegetative growth of plantlets. Since Gerbera plant has bulky roots, the roots of this plant cannot be developed well in the NFT system, so the use of the NFT system is not suitable for Gerbera cultivation. The best performance of plant samples was obtained from vermiculite culture media, but since there were no significant differences between vermiculite and vermiculite: perlite, so to reduce production costs, the use of vermiculite: perlite culture medium in the closed system is recommended for the cultivation of Gerbera

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, respectively.

(*- Corresponding Author Email: ahmadsharifi66@yahoo.com)

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

plant.

Conclusion: Since Gerbera plant has bulky roots, the roots of this plant cannot be developed well in the NFT system, so the use of the NFT system is not suitable for Gerbera cultivation. The best performance of plant samples was obtained from vermiculite culture media, but since there were no significant differences between vermiculite and vermiculite: perlite, so to reduce production costs, the use of vermiculite: perlite culture medium in the closed system is recommended for the cultivation of Gerbera plant.

Keywords: Closed irrigation system, Flower diameter, Integrated planting bed, NFT system



مقاله علمی-پژوهشی

بررسی توانایی سویه‌های مختلف *Agrobacterium rhizogenes* در القای ریشه موئین و تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

مریم زارع حسن آبادی^۱ - علی گنجعلی^{۲*} - مهرداد لاهوتی^۳ - نسرین مشتاقی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۱۷

چکیده

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) حاوی مقادیر بالایی از ترکیبات فنلی و ترکیبات فعال زیستی با نقش آنتی‌اکسیدانی است. سیستم کشت ریشه موئین، روشی مناسب برای تولید ترکیبات ثانویه دارویی می‌باشد. جهت بررسی توانایی سویه‌های باکتری *Agrobacterium rhizogenes* در القای ریشه موئین و تولید متابولیت‌های ثانویه، گیاهچه‌های ریحان در محیط کشت MS^{۱/۲} کشت شدند. پس از ۴۵ روز، ریزنمونه‌های برگ، ساقه و نواحی گره توسط چهار سویه باکتری (ATCC-15834, A4, MSU, R1000) تلقیح شدند و ریشه موئین را در زمان‌های متفاوت القاء کردند. پس از ۱۴ روز، ریشه‌های موئین تنها در نواحی گره ظاهر شدند ولی ریزنمونه‌های برگ و ساقه پاسخی به تلقیح نشان ندادند. ریشه‌های تولید شده به محیط MS مایع منتقل شدند و پس از ۶۰ روز، ویژگی‌های رشد و میزان فنل کل بررسی گردید. DNA ژنومی از ریشه‌های موئین و غیرموئین استخراج و ماهیت القای ریشه‌های موئین با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *rol C* در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) تایید شد. درصد القای ریشه موئین به طور معنی‌داری تحت تاثیر سویه باکتری قرار داشت. بالاترین درصد القای ریشه (۶۸/۱ درصد)، بیشترین تعداد ریشه موئین در هر ریزنمونه (۴/۸ عدد) و بیشترین طول ریشه (۱/۸ سانتی‌متر) به سویه ATCC-15834 تعلق داشت. بالاترین وزن خشک (۱۰۳/۲ میلی‌گرم) و میزان فنل کل (۳۱۲ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک) به همین سویه مربوط بود که افزایش ۴/۶ برابری نسبت به شاهد غیرموئین داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که سویه ATCC-15834 را می‌توان به عنوان یک سویه موثر در القا و رشد ریشه‌های موئین و نیز تولید متابولیت ثانویه در ریحان معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: آگروباکتریوم رایزوژنز، ریحان، ریشه موئین، فنل کل

مقدمه

ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L. گیاهی یک‌ساله و متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد که در انواع شرایط اکولوژیکی و نواحی گرم هند، آفریقا و جنوب آسیا کاشت می‌شود (۳۳). این گیاه دارای کاربردهای اقتصادی مهم و متعددی در زمینه پزشکی و صنایع دارویی، غذایی و آرایشی است. ریحان یک گیاه غنی از متابولیت‌های ثانویه به ویژه پلی‌فنل‌ها و روغن‌های فرار می‌باشد و به طور سنتی به عنوان طعم دهنده، در درمان سردرد، سرفه، اسهال، یبوست، بیماری‌های انگلی، ناراحتی‌های کلیوی و درمان آکنه استفاده می‌شود، خاصیت دفع حشرات و فعالیت ضدانگلی، ضدباکتریایی،

ضدقارچ و ضدویروس دارد (۳).

ترکیبات اصلی عطر ریحان شامل استراگول، لینالول، اوژنول، ۱ و ۸ - سینئول و متیل سینامات و ترکیبات غیرقرار شامل اسیدهای فنلی کافئیک‌اسید و رزمارینیک‌اسید است. ترکیبات فنلی که به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی و انواع فعالیت‌های زیستی در سلامت انسان اهمیت دارند، فراوان‌ترین نوع متابولیت‌های ثانویه در ریحان می‌باشند (۲۶). مطالعات متعددی در زمینه تولید، خالص‌سازی و افزایش سطح این ترکیبات در گیاهان انجام شده است. استخراج این ترکیبات دارویی از بافت‌های گیاهی به دلیل اثرات شرایط اکولوژیکی بر رشد و بازده آن‌ها، با محدودیت روبرو است (۲۱). رزمارینیک‌اسید (یکی از پلی‌فنل‌های اصلی ریحان) به عنوان یک عامل ضدالتهاب و محافظ اعصاب و عروق شناخته شده است (۳۹).

در حال حاضر از تکنیک‌های مختلفی جهت تولید ترکیبات ثانویه گیاهی در سیستم *in vitro* استفاده می‌شود که ریشه موئین (القای ریشه با واسطه‌ی باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز)، معمول‌ترین و

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشیار و استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد

(Email: ganjeali@um.ac.ir)

*- نویسنده مسئول:

۴- دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

موثرترین روش برای ایجاد تغییر ژنتیکی در گیاهان و یکی از مهمترین تکنیک‌های کاربردی در این زمینه می‌باشد. کشت ریشه موئین، یک سیستم بالقوه برای تولید ترکیبات ثانویه گیاهی به ویژه ترکیبات دارویی است که به دلیل ثبات ژنتیکی و بیوشیمیایی، سرعت رشد سریع، سهولت نگهداری، رشد ریشه‌ها در محیط فاقد هورمون و تولید بیشتر ترکیبات ثانویه نسبت به گیاهان سالم، مورد توجه قرار گرفته است (۷، ۱۱ و ۲۳). در صورت تولید یک متابولیت خاص در بخش هوایی گیاه، می‌توان از کشت ریشه موئین برای سنتز آن نیز استفاده کرد (۷). امروزه تولید ترکیبات ثانویه مختلف در گیاهان دارویی ارزشمند در مقیاس بالا، از طریق بیوراکتورهای ریشه موئین امکان‌پذیر شده است (۴۲).

Agrobacterium rhizogenes یک باکتری خاک‌زی گرم منفی (متعلق به خانواده Rhizobiaceae) و مسئول تشکیل ریشه در محل آلودگی می‌باشد. این باکتری می‌تواند T-DNA (که آنزیم‌هایی برای کنترل هورمون اکسین و بیوسنتز سیتوکینین کد می‌کند) را از پلاسمید Ri خود به درون ژنوم میزبان وارد کند. ژن‌های rol موجود در پلاسمید Ri باکتری، ریشه موئین را پس از ورود به ژنوم میزبان القا می‌کنند. این ژن‌ها بر رشد و نمو ریشه‌های موئین تاثیر می‌گذارند و با فعال‌سازی رونویسی از ژن‌های دفاعی، سبب سنتز ترکیبات ثانویه می‌شوند (۲۳).

عوامل متعددی مانند نوع ریزنمونه، ژنوتیپ گیاه، شرایط محیط کشت، سویه باکتری و واکنش متقابل میزبان-باکتری، بر فرایند تراریختی موفق تاثیر می‌گذارند (۱۶). مطالعات قبلی نشان داده است که ریشه‌های موئین القا شده توسط سویه‌های مختلف باکتری، از نظر رشد، مورفولوژی و تولید ترکیبات ثانویه تفاوت دارند (۱۴). بنابراین با توجه به گونه گیاهی باید سویه مناسب آگروباکتریوم انتخاب شود. در کشت ریشه موئین معمولاً از سویه‌های تیپ آگروپین^۱ به دلیل توانایی بیشتر در بیماری‌زایی استفاده می‌شود (۲۳).

از جمله تحقیقات انجام شده در زمینه ریشه موئین می‌توان به تولید دیوزژنین در کشت ریشه موئین گیاه بهمن‌پیچ (*Hyocyamus isora* L.) توسط کومار و همکاران (۲۰)، تولید آلپزارین در کشت ریشه موئین روناس (*Rubia akane*) توسط پارک و همکاران (۳۰) و تولید رزمارینیک‌اسید در کشت ریشه موئین ریحان (۳) اشاره کرد. مجومدار و همکاران (۲۴) نیز تولید پنج برابری ساپونین را در ریشه‌های موئین گیاه نازباتالاقی (*Bacopa monnieri*) نسبت به گیاهان غیرموئین گزارش کردند. احمدی مقدم و همکاران (۱) تولید دوپامین در کشت ریشه موئین خرفه (*Portulaca oleracea*) را نشان دادند. خضرو و همکاران (۱۹) تولید تروپان آلکالوئیدها در ریشه موئین بذربالنج مشبک (*Hyocyamus reticulates*)، و رهنما (۳۲)

تولید ترکیب سیلیمارین در ریشه موئین گیاه خارمریم (*Silybum marianum*) را گزارش دادند.

در ایران تحقیقات اندکی روی تولید ریشه موئین در گیاه ریحان صورت گرفته است و با توجه به اهمیت این گیاه به دلیل دارابودن ترکیبات ثانویه ارزشمند، تولید بهینه ریشه‌های موئین از نظر کمی و کیفی ضروری به نظر می‌رسد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد تاثیر سویه های مختلف آگروباکتریوم رایزوژنز در القای ریشه موئین و محتوای ترکیبات فنلی در گیاه ریحان انجام نشده است. لذا این پژوهش با هدف بررسی تاثیر سویه‌های مختلف این باکتری بر القاء و رشد ریشه های موئین و نیز بهبود تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه ریحان انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی

این مطالعه در دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. بذره‌های ریحان (*Ocimum basilicum* L.) (به شماره کد ۴۵۴۹۹ مربوط به ناحیه گچساران) از موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی کرج تهیه شد. بذرها در اتانل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس در هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و پس از هر مرحله، سه بار شستشو با آب مقطر استریل صورت گرفت. بذور استریل در محیط کشت MS (۲۹) حاوی ۰/۷ درصد آگار و ۳ درصد ساکارز (pH=5.8) کشت داده شدند و به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط ۱۶ ساعت روشنایی (با شدت نور ۳۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. بعد از گذشت ۴۵ روز، گیاهچه‌های حاصل برای تهیه ریزنمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

آماده‌سازی باکتری

در این مطالعه، چهار سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز (ATCC-15834, A4, MSU, R1000) از نظر پتانسیل القای ریشه‌های موئین مورد بررسی قرار گرفتند. استوک گلیسرولی این سویه‌های باکتری از پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی مشهد تهیه شد. باکتری‌ها در محیط کشت تازه YMB^۲ حاوی ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر ریفامپسین کشت شدند و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر انکوباتور (دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه) در تاریکی قرار گرفتند. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از باکتری‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و رسوب داده شدند. بر روی رسوب، آب مقطر استریل و ۵۰ میلی‌لیتر استوسرینگون افزوده شد و به مدت دو ساعت روی شیکر قرار گرفت.

آگروباکتریوم رایزوترنز انجام شد. پلاسمید Ri سویه‌های مختلف آگروباکتریوم به عنوان کنترل مثبت به کار رفت. آغازگرهای اختصاصی ژن *rolC* به صورت زیر بود:

Forward-5`CTCCTGACATCAAACTCGTC-3`
Reverse-5`TGCTTCGAGTTATGGGTACA-3`

ابتدا مخلوط PCR (۲۰ میکرولیتر) حاوی حدوداً ۵۰ نانوگرم DNA الگو تهیه گردید. جهت تکثیر DNA استخراج شده از هر نمونه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *rolC*، از برنامه دمایی زیر در دستگاه ترموسایکلر (مدل Analytikjena, Gradient) استفاده شد: واسرشت سازی اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (یک چرخه و مدت ۴ دقیقه)، واسرشت سازی در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (۳۵ چرخه به مدت ۶۰ ثانیه)، اتصال در ۵۵ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۳۰ ثانیه)، گسترش در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۶۰ ثانیه)، و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۷ دقیقه). برای مشاهده محصولات PCR، از ژل آگارز یک و نیم درصد استفاده شد. ژل حاصل داخل تانک الکتروفورز حاوی بافر ۱۰TBE درصد (تریس بوریک اسید-EDTA) قرار گرفت. ۰/۸ میکرولیتر از رنگ Gold (ساخت شرکت پارس توس) و ۵ میکرولیتر از محصول PCR با یکدیگر مخلوط و در هر چاهک ژل ریخته شد. الکتروفورز تحت ولتاژ ۸۰ ولت و جریان ۲۵ آمپر انجام و ژل با استفاده از نور UV در دستگاه ژل داک (BioDoc-It 220, UK) بررسی شد.

سنجش فنل کل

برای استخراج عصاره طبق روش اسریواستاو و همکاران (۳۸)، ۲۵ میلی گرم از ریشه خشک شده، با ۲۵ میلی لیتر متانل ۶۰ درصد به روش فراصوت به مدت ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری شدند و عصاره‌ها پس از عبور از کاغذ صافی برای سنجش مورد استفاده قرار گرفتند. طبق روش سینگلتن و روسی (۳۷) برای سنجش فنل کل، یک میلی لیتر عصاره متانلی، ۴ میلی لیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو و ۱/۲۵ میلی لیتر کربنات سدیم ۲/۱ درصد با هم مخلوط و برای ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس جذب مخلوط در ۷۳۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Shimadzu, Japan) اندازه‌گیری شد. برای شاهد از همان مخلوط ولی بدون نمونه استفاده شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف گالیک اسید رسم شد و غلظت-های فنل کل نمونه‌ها به صورت میلی گرم گالیک اسید بر گرم ماده خشک (mg GAE/g DW) بیان شدند.

آنالیز آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) قرار گرفتند. میانگین‌ها به کمک آزمون چند

تراکم سلولی باکتری در OD₆₀₀ بین ۰/۶-۰/۷ تعیین گردید و جهت تلقیح به ریزنمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

القای ریشه موئین

برای القای ریشه موئین در ریزنمونه‌ها از روش تلقیح مستقیم باکتری‌ها استفاده شد. به این منظور، گیاهچه‌های استریل و نیز جداکشت‌های برگ و قطعات ساقه روی کاغذ صافی در پلیت استریل قرار گرفتند. جهت تلقیح، با استفاده از سرنگ دو میلی لیتری از سوسپانسیون باکتری برداشت شد و نمونه باکتری به صورت نقاطی در نواحی رگبرگ اصلی پشت برگ گیاهچه‌ها و جداکشت‌های برگ و ساقه تلقیح شدند. سپس ریزنمونه‌های تلقیح شده، به محیط کشت MS^{۱/۲} جامد فاقد آنتی بیوتیک منتقل و در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تلقیح نمونه شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، ریزنمونه‌های تلقیح شده جهت حذف باکتری به محیط کشت MS جامد حاوی آنتی بیوتیک سفوتاکسیم به غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر منتقل و در تاریکی در دمای اتاق نگهداری شدند. ریزنمونه‌ها هر هفت روز یک بار در محیط کشت MS تازه با همین غلظت آنتی بیوتیک واکشت شدند (۴۶).

استقرار کشت ریشه‌های موئین

۳ تا ۱۴ روز پس از کشت با باکتری، ریشه‌های موئین در ناحیه گره‌های گیاهچه‌های استریل ظاهر شدند و پس از شش هفته، نوک ریشه‌ها قطع شدند. ۵۰ میلی لیتر محیط کشت MS^{۱/۲} مایع (pH=5.5) حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر سفوتاکسیم) در ارلن‌های ۲۰۰ میلی لیتری ریخته شد و ۳۰۰ میلی گرم بافت ریشه به ارلن‌ها منتقل گردید. ارلن‌ها به مدت دو ماه بر روی شیکرانکوباتور (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۹۰ دور در دقیقه) در تاریکی نگهداری شدند. ریشه‌ها پس از قرارگیری در محیط مایع رشد سریعی نشان دادند و لذا پس از ۶۰ روز جمع‌آوری شدند و صفات رشد شامل تعداد ریشه‌ها، وزن تر و خشک، درصد القای ریشه موئین و محتوای فنل کل در واحدهای آزمایشی مختلف تعیین شد. برای بدست آوردن درصد القای ریشه موئین از فرمول زیر استفاده شد (۴۴):

درصد القای ریشه موئین

100 × تعداد کل ریزنمونه‌های تلقیح شده / تعداد ریزنمونه‌های تولید کننده ریشه موئین =

تایید موئینه بودن ریشه‌ها با واکنش PCR

DNA ژنومی از ریشه‌های موئین و غیرموئین ریحان (از گیاهچه‌های بدون تلقیح) براساس روش CTAB (۳۶) استخراج و در آنالیز PCR برای تشخیص ژن *rolC* و *virD2* استفاده شد. روش PCR با آغازگرهای اختصاصی ژن *rolC* و *virD2* باکتری

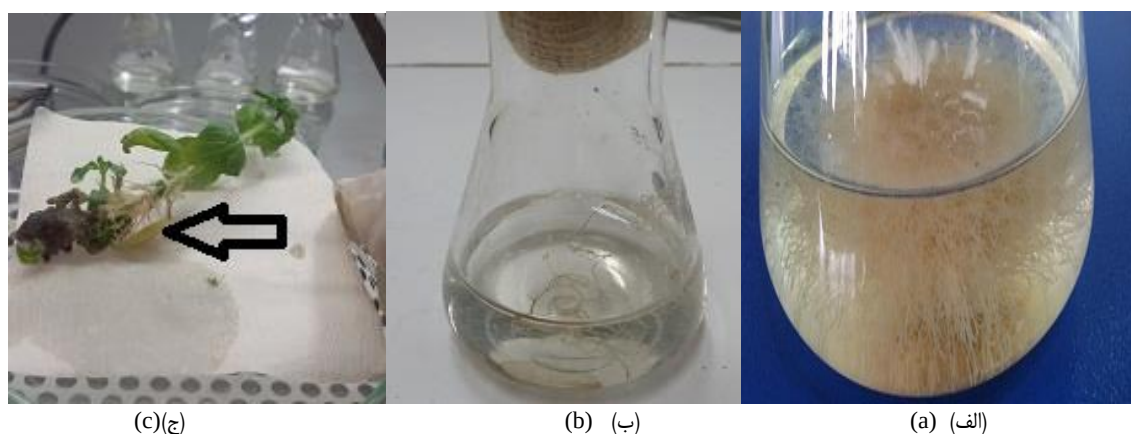
دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد مقایسه شدند و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

تاثیر سویه باکتری و نوع ریزنمونه در القای ریشه موئین

در این بخش، تاثیر چهار سویه آگروباکتریوم رایزوترنز (ATCC-15834, A4, MSU, R1000) بر القاء و رشد ریشه موئین در ریزنمونه‌های ساقه، برگ و گره‌های گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت. هر چهار سویه قادر به القای ریشه موئین در زمان‌های مختلف

بودند. در ریزنمونه‌های ساقه و برگ تلقیح شده توسط هر یک از چهار سویه باکتری، ریشه موئین تشکیل نشد و این ریزنمونه‌ها پس از مدتی نکروزه و از بین رفتند، ولی در بافت گره گیاهچه‌های استریل (جایگاه‌های تلقیح)، ریشه‌ها تشکیل شدند (شکل ۱). ریشه‌های القا شده توسط هر یک از چهار سویه باکتری، انشعابات زیاد و رشد سریع داشتند و تفاوت مورفولوژیکی اندکی بین آن‌ها مشاهده شد. در ریزنمونه‌های غیرموئین (شاهد) که تلقیح باکتریایی نشده بود، ریشه موئین تشکیل نگردید که این امر نشان می‌دهد نمو ریشه‌های موئین به دلیل پاسخ مورفوننتیک، و نه تنش فیزیولوژیکی، می‌باشد.



شکل ۱- الف: تشکیل ریشه موئین در گیاهچه ریحان (*Ocimum basilicum*) در محل گره‌ها (جایگاه‌های تلقیح)، ۵ روز پس از تلقیح باکتری آگروباکتریوم رایزوترنز (سویه ATCC-15834)، ب: کلون‌های ریشه موئین دو هفته پس از تلقیح، ج: رشد ریشه‌های موئین در محیط کشت دو ماه پس از تلقیح

Figure 1- A: Hairy root formation in nodes of *Ocimum basilicum* explant after 5 days of inoculation with *Agrobacterium rhizogenes* strain ATCC-15834. B: Hairy roots after 2 weeks of co-cultivation in 1/2 MS medium, C: Hairy roots after 2 month of co-cultivation in 1/2 MS medium

بهترین ریزنمونه برای القای ریشه موئین در *Eurycoma longifolia* و موهیودین و همکاران (۲۸)، دم‌برگ را ریزنمونه مناسب برای تشکیل ریشه موئین در خربزه (*Cucumis melo*) معرفی کردند. البته در بعضی گزارش‌ها، سویه R1000 به عنوان موثرترین سویه در القای ریشه موئین معرفی شده است (۴۵). بنابراین توانایی سویه‌های مختلف در القا ریشه موئین با توجه به گونه گیاه متفاوت است.

پاسخ متفاوت بافت‌های گیاهی به القای ریشه موئین با آگروباکتریوم رایزوترنز در مطالعات پیشین گزارش شده است و اثرات معنی‌دار سویه باکتری و نوع ریزنمونه بر القای ریشه موئین اثبات شده است (۹ و ۴۱). درواقع جوان بودن بافت، توازن هورمونی و ماهیت ریزنمونه، عوامل مهمی در القا و تولید ریشه موئین می‌باشند (۲۷). پاسخ به زخم، مهمترین فاکتور در تراریختی موفق است و ریزنمونه‌هایی که پاسخ شدیدی به زخم می‌دهند، توده‌های سلولی

انتخاب ریزنمونه مناسب در فرایند القای ریشه موئین بسیار حائز اهمیت است. در میان ریزنمونه‌های مورد بررسی، ریشه‌های موئین در ریزنمونه‌های برگ و ساقه تشکیل نشد که علت آن احتمالاً حساس بودن این بافت‌ها و قهوه‌ای و نکروزه شدن آن‌ها در محیط کشت بود. ریشه‌های موئین تنها در ناحیه گره‌ها ظاهر شدند که علت آن می‌تواند حساسیت پذیری (با توجه به وضعیت فیزیولوژیکی بافت) و مستعد بودن این ناحیه به تراریختی باشد (۱۸). این نتایج با مطالعه گاندی و گیری (۱۲) مطابقت دارد. آن‌ها با بررسی القای ریشه موئین در ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ، گره و ساقه‌ی گیاه آب‌بشقابی (*Centella asiatica*) مشاهده کردند که ریشه‌ها تنها در نواحی گره ظاهر شدند و سایر ریزنمونه‌ها پاسخی به القای ریشه نشان ندادند.

فارسی و همکاران (۱۰) ریزنمونه گره ساقه را به عنوان بهترین ریزنمونه برای تولید ریشه موئین در تاتوره (*Datura stramonium*) گزارش دادند در صورتی که دانیال و همکاران (۸)، هیپوکوتیل را

و پس از آن سویه‌های A4 با ۵۸/۲ درصد، MSU با ۵۱/۵ درصد و R1000 با ۱۱/۳ درصد قرار گرفتند (جدول ۱). تاثیر دو سویه A4 و MSU در ریشه‌زایی، کمتر از سویه ATCC-15834 و بیشتر از R1000 بود. سویه R1000 کمترین بازده را داشت و تنها در ۱۱/۳ درصد گره‌های تلقیح شده، ریشه موئین تشکیل گردید. به طور کلی مشخص شد که سویه ATCC-15834 و گره‌ها، بهترین پاسخ را به تشکیل ریشه موئین در ریحان می‌دهند. در مطالعات پیشین، تاثیر سویه باکتری بر درصد القای ریشه موئین در گونه‌های گیاهی مختلف اثبات شده است (۴۷).

جهت ترمیم زخم تشکیل می‌دهند. اختلاف سلول‌های ریزنمونه از نظر سنتز DNA و توانایی تقسیم سلولی، به مرحله بلوغ فیزیولوژیکی آن‌ها ارتباط دارد (۴۲).

در بررسی تاثیر سویه باکتری بر تراریختی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که درصد القای ریشه موئین به طور معنی‌داری تحت تاثیر سویه‌های مختلف باکتری قرار گرفت. در این آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین سویه ATCC-15834 و سایر سویه‌ها از نظر درصد القای ریشه موئین وجود داشت ($P \leq 0.05$). در بین چهار سویه ی باکتری مورد مطالعه، سویه ATCC-15834 با ۶۸/۱ درصد القای ریشه موئین پس از ۵ روز از تلقیح، قوی‌تر از سایر سویه‌ها عمل کرد

جدول ۱- تاثیر سویه‌های مختلف باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز بر رشد ریشه موئین ریحان *O.basilicum* (۶۰ روز پس از تلقیح). نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار آورده شده است.

Table 1- Effect of different strains of *A. rhizogenes* on hairy root growth of *O.basilicum* (after 60 days of co-cultivation). Values represent the mean $\pm$ SD.

سویه‌های آگروباکتریوم <i>A.rhizogenes</i> strains	طول ریشه موئین Hairy root length (cm)	تعداد ریشه موئین در هر ریزنمونه Number of hairy roots per explant	القای ریشه موئین (درصد) Infection frequency	روز مورد نیاز برای القا ریشه موئین (سرعت ریشه‌زایی) Days for hairy root induction
ATCC-15834	1.8 $\pm$ 0.1 ^a	4.8 $\pm$ 0.2 ^a	68.1 $\pm$ 4.3 ^a	3-5
MSU	1.3 $\pm$ 0.2 ^b	3.1 $\pm$ 0.5 ^b	51.5 $\pm$ 3.9 ^b	7
A4	1.1 $\pm$ 0.1 ^b	2.8 $\pm$ 0.3 ^b	58.2 $\pm$ 5.1 ^b	9-10
R1000	0.5 $\pm$ 0.3 ^c	1.2 $\pm$ 0.2 ^c	11.3 $\pm$ 5.6 ^c	14

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشند.

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

اختلاف در سطح بیماری‌زایی آن‌ها باشد (۴۲). همچنین بیان افتراقی ژن‌های T-DNA در ریزنمونه‌ها، تعداد متغیر نسخه‌های وارد شده T-DNA، و اثرات تلفیق T-DNA در جایگاه‌های مختلف ژنوم میزبان می‌توانند عوامل موثر در میزان درصد القا ریزنمونه‌ها باشند (۴۳).

سرعت القا، تعداد و طول ریشه موئین

هر چهار سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز قادر به القای ریشه موئین بودند و در سرعت القای ریشه موئین این سویه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). بالاترین سرعت القای ریشه موئین به سویه ATCC-15834 تعلق داشت. ریشه‌های موئین حاصل از تلقیح این سویه، به طور میانگین ۴ روز پس از تلقیح، بر گیاهچه‌ها ظاهر شدند. کم‌ترین سرعت تشکیل ریشه‌های موئین، در گیاهچه‌های تلقیح شده با سویه R1000 مشاهده شد که حدود ۱۴ روز طول کشید، در صورتی که القای ریشه‌های موئین توسط سویه‌های A4 و MSU به ترتیب به ۷ و ۱۰ روز زمان نیاز داشت. به طور کلی زمان

یکی از فاکتورهای مهم در دستیابی به ریشه موئین، انتخاب سویه مناسب باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز با توجه به نوع گیاه است (۳۴ و ۳۵). این باکتری طیف میزبانی وسیعی دارد و می‌تواند ریشه موئین را در گیاهان مختلف القا کند (۲۰). سویه ATCC-15834 به طور وسیعی برای القای ریشه موئین در گیاهان مختلف استفاده شده است و نتایج مشابهی در رابطه با کارایی بهتر این سویه نسبت به سایر سویه‌های مورد بررسی در گیاهان مختلف مانند گیاه بهمن‌پیچ (*Plumbago indica*) (۲۰)، گیاه علف‌سربی (*Helicteris isora*) (۱۳)، هزار چشم (*Hypericum perforatum*) (۴) و شوییدی (*Cosmos bipinnatus*) (۱۶) تایید شده است.

نتایج بدست آمده نشان داد که توانایی القای ریشه موئین توسط سویه‌های مختلف این باکتری در گیاه ریحان متفاوت است. انتقال T-DNA تحت تاثیر عوامل متعددی قرار دارد، از جمله سویه باکتری، تراکم سوسپانسیون باکتری، دوره تلقیح، ژنوتیپ میزبان، نوع ریزنمونه، وضعیت هورمونی بافت و شرایط محیط کشت (۲۷). ورود پلاسمیدهای مختلف در سویه‌های باکتری، می‌تواند یکی از دلایل

ظهور ریشه‌های موئین تحت تاثیر سویه باکتری قرار داشت و این زمان بین ۳ تا ۱۴ روز متغیر بود.

بیشترین تعداد ریشه‌های موئین در هر گیاهچه (۴/۸ ریشه) و بیشترین طول ریشه (۱/۸ سانتی‌متر) متعلق به سویه ATCC-15834 بود که نسبت به سه سویه دیگر معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$) (جدول ۱). اختلاف معنی‌داری بین سویه‌های MSU و A4 از نظر تعداد و طول ریشه القا شده وجود نداشت ولی سویه R1000 با توجه به درصد تعداد ریشه القا شده (۱/۲ ریشه) و طول ریشه (۰/۵ سانتی‌متر) ضعیف‌ترین عملکرد را در بین سایر سویه‌ها به خود اختصاص داد و اختلاف معنی‌داری با سایرین داشت.

وزن خشک ریشه‌های موئین

نتایج حاصل از بررسی داده‌ها نشان داد که سویه‌های مختلف باکتری، تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه‌های موئین دارند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که پس از ۶۰ روز، بیشترین و کمترین وزن خشک ریشه‌های موئین به ترتیب به سویه ATCC-15834 (۱۰۳/۲ میلی‌گرم در هر ارلن) و سویه R1000 (۹/۳ میلی‌گرم در هر ارلن) مربوط بود تفاوت معنی‌داری در وزن خشک ریشه‌های موئین القا شده با سویه‌های MSU (۵۳/۱ میلی‌گرم) و A4 (۴۸/۲ میلی‌گرم) مشاهده نشد (شکل ۳). مقدار وزن خشک ریشه‌های موئین حاصل از تلقیح سویه ATCC-15834 نسبت به شاهد غیرموئین، حدود ۶ برابر افزایش یافت.

اختلاف در مورفولوژی و میزان رشد ریشه‌های موئین را می‌توان به تنوع پلاسמידهای وارد شده توسط سویه‌های مختلف باکتری نسبت داد که به چگونگی تاثیر ژن‌های *rol* مربوط می‌شود. بیان این ژن‌ها، سطح هورمون‌های اکسین و سیتوکینین گیاه میزبان و نیز میزان حساسیت سلول‌های گیاهی به سطح هورمون‌های رشد را تغییر می‌دهند (۴۵).

نتایج واکنش PCR

DNA ژنومی ریشه‌های طبیعی (غیرموئین)، ریشه‌های موئین و DNA پلاسمیدی سویه‌های باکتری به روش CTAB استخراج شد. تکنیک PCR با استفاده از ژن‌های *rol C* و *vir D2* باکتری آگروباکتریوم رایزوترنز، جهت تایید مولکولی و ورود T-DNA باکتری به ریشه‌های موئین بکار رفت. نمونه باکتری به عنوان کنترل مثبت و ریشه غیرموئین به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد (شکل ۲). حضور ژن *rol C* (که بر روی پلاسمید Ri باکتری قرار دارد) برای تایید وجود این قطعه در ژنوم ریشه القا شده بکار رفت. ژن *vir D2* (که در خارج از T-DNA باکتری قرار دارد) برای تایید عدم وجود باکتری در ریشه‌های موئین مورد استفاده قرار گرفت. محصولات

PCR به کمک آغازگرهای اختصاصی، بر روی ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از مارکر DNA یک کیلوبازی به عنوان مرجع، الکتروفورز شدند و سپس ژل در دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت. باند مربوط به قطعه ۶۱۲ کیلوبازی ژن *rolC* در DNA تکثیر شده تمام ریشه‌های موئین مشاهده شد ولی این باند در محصول PCR از DNA ریشه‌های غیرموئین (شاهد) یافت نشد. باند مربوط به ژن *vir D2* نیز در نمونه‌های ریشه موئین مشاهده نگردید.

این نتایج، ماهیت موئینه بودن تمام ریشه‌های موئین را در سطح مولکولی تایید کردند و تلفیق موفقیت‌آمیز قطعات T-DNA پلاسمید Ri آگروباکتریوم در ژنوم گیاه ریحان، بدون حضور باکتری، تایید شد. در میان ژن‌های *rol*، ژن *rolB* نقش حیاتی در بیماری‌زایی دارد در حالی که ژن‌های *rolA*، *rolC* و *rolD* در القای ریشه‌های موئین نقش دارند (۴۲).

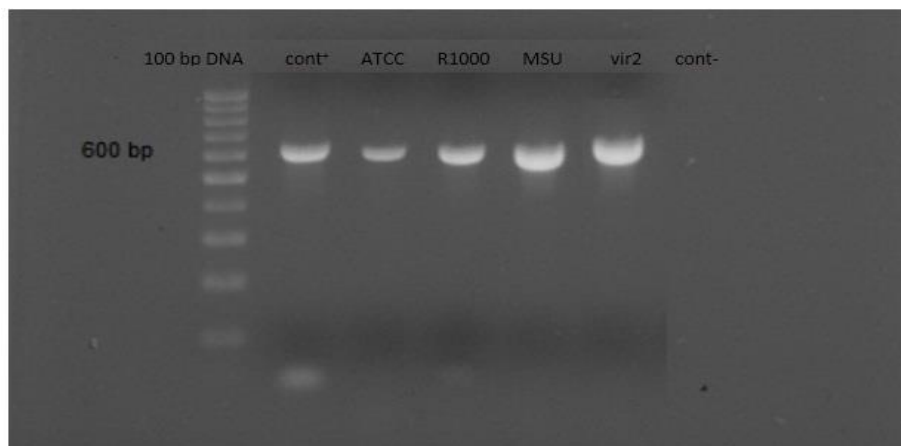
سنجش فنل کل

محتوای فنل کل در ریشه‌های موئین حاصل از سویه‌های مختلف آگروباکتریوم و ریشه‌های شاهد (غیرموئین) اندازه‌گیری و مقایسه شدند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محتوای فنل کل در ریشه‌های موئین القا شده توسط سویه‌های مختلف باکتری، افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد غیرموئین داشت ($P < 0.05$). بالاترین محتوای فنل کل (۳۱۲/۷ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک) در ریشه‌های القا شده با سویه ATCC-15834 مشاهده شد که نسبت به شاهد غیرموئین (۶۷/۹ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک) حدود ۴/۶ برابر افزایش نشان داد. مقدار فنل کل در سویه‌های MSU (۲۱۹ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک) و A4 (۱۹۵ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم ماده خشک) بود که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در مقایسه سویه‌ها، کمترین مقدار ترکیبات فنلی (۱۱۵/۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم وزن خشک) به سویه R1000 تعلق داشت.

مطالعات قبلی، کارایی متفاوت سویه‌های مختلف باکتری آگروباکتریوم رایزوترنز را در تولید متابولیت‌های ثانویه در ریشه‌های موئین نشان داده‌اند و تولید این ترکیبات به صورت "سویه اختصاصی" پیشنهاد شده است. یونکوا و همکاران (۱۵) با بررسی ریشه‌های موئین نوعی گون (*Astragalus mongholicus*) گزارش دادند که سویه‌های مختلف این باکتری، تاثیر متفاوتی بر سرعت رشد، تولید ساپونین و نسبت ترکیبات ثانویه مختلف دارند. طبق تحقیقات ماتیوس و همکاران (۲۵)، نوع سویهی آگروباکتریوم رایزوترنز، بر سرعت رشد و تولید تروپان آلکالوئیدها در کشت ریشه موئین بذرا لنبج مصری (*Hyocymus muticus*) تاثیر می‌گذارد. تیواری و همکاران

گلکوزیدها پاسخ می‌دهد. بنابراین انتخاب سویه موثر آگروباکتریوم برای تولید ریشه‌های موئین، به نوع گونه گیاهی بستگی دارد و باید به دقت صورت گیرد (۲۳).

(۴۵) با تلقیح چهار سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز به گل‌سپاس (*Gentiana macrophylla*) و القای ریشه‌های موئین نشان دادند که هر لاین ریشه موئین، به صورت متفاوتی به رشد و تولید



شکل ۲- آنالیز PCR ریشه‌های موئین *Ocimum basilicum* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *rolC* به ترتیب از چپ به راست چاهک اول: مارکر مولکولی (100-bp DNA ladder)، *cont+*، DNA پلاسمید باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز (کنترل مثبت)، چاهک سوم تا پنجم: DNA ژنومی از ریشه‌های موئین با سویه‌های *ATCC-15834*، *R1000*، *MSU* و *cont-* DNA ژنومی از ریشه غیر موئین (کنترل منفی).

Figure 2- PCR analysis of *rolC* gene in hairy roots of *Ocimum basilicum*, Lane 1: Molecular marker (100 bp ladder DNA). Lane 2: *A. rhizogenes* DNA positive control. Lane 3-5: DNA from hairy roots induced with *ATCC-15834*, *R1000*, *MSU*, respectively. Lane 6: DNA from non-transformed root (negative control)

(۷ و ۴۰). گابر و همکاران (۱۱) تا سه برابر محتوای فنلی بیشتر در کشت ریشه‌های موئین *F. esculentum* گزارش دادند. بیس و همکاران (۳) نیز تولید سه برابری رزمارینیک‌اسید را در ریشه‌های موئین ریحان نسبت به گیاه غیرموئین نشان دادند. مقدار بالاتر ترکیبات فنلی در ریشه‌های موئین می‌تواند ناشی از اثرات ژن *rolB* در فرآیند تنظیم ژن‌های مربوط به تولید ترکیبات ثانویه باشد (۵). نتایج این مطالعه نشان داد که محتوای ترکیبات فنلی در ریشه‌های موئین با توجه به نوع سویه آگروباکتریوم، متفاوت است و ریشه‌های موئین القا شده با سویه *ATCC-15834*، از بالاترین محتوای فنلی برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای اولین بار تاثیر چهار سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز (*ATCC-15834*، *A4*، *MSU*، *R1000*) بر القای ریشه‌های موئین، صفات رشد و محتوای ترکیبات فنلی در ریشه‌های موئین ریحان مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، بافت گره به عنوان تنها بخش پاسخ‌دهنده به القای ریشه‌های موئین تایید شد. سویه *ATCC-15834* به دلیل تولید وزن خشک بیشتر، درصد و سرعت بالاتر در القای ریشه‌های موئین و تولید محتوای فنلی بیشتر، به عنوان بهترین سویه در گیاه ریحان پیشنهاد شد. نتایج این

نتایج تحقیق کرم و همکاران (۱۷) بر انباشتگی رزمارینیک‌اسید در ریشه‌های موئین *Salvia fruticosa* نشان داد که ریشه‌های موئین می‌توانند این ترکیبات را در مدت زمان کوتاه‌تری تولید و ذخیره کنند. توانایی تولید انواع ترکیبات ثانویه در ریشه‌های موئین مریم‌گلی (*Salvia miltiorrhiza*) تلقیح شده با سویه *ATCC-15834*، توسط چن و همکاران (۶) نشان داده شد. طبق گزارش لی و همکاران (۲۲)، ریزنمونه‌های برگ و ساقه‌ی گیاه *Agastache rugosa* نیز پس از تلقیح با سویه *R1000* و ایجاد ریشه موئین، انواع ترکیبات ثانویه را تولید کردند.

تولید ترکیبات فنلی در کشت ریشه‌های موئین بسیاری از گیاهان مانند گندم سیاه (*Fagopyrum esculentum*) (۲۱) گزارش شده است. پارک و همکاران (۳۱) توانستند مقادیر زیادی از ترکیبات فنلی مانند کافئیک اسید و روتین را در کشت ریشه‌های موئین ۲۱ روزه *F. tataricum* تولید کنند. همچنین، افزایش تولید گلیسییریزین و فلاونوئیدها در کشت ریشه موئین شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) تایید شده است (۲).

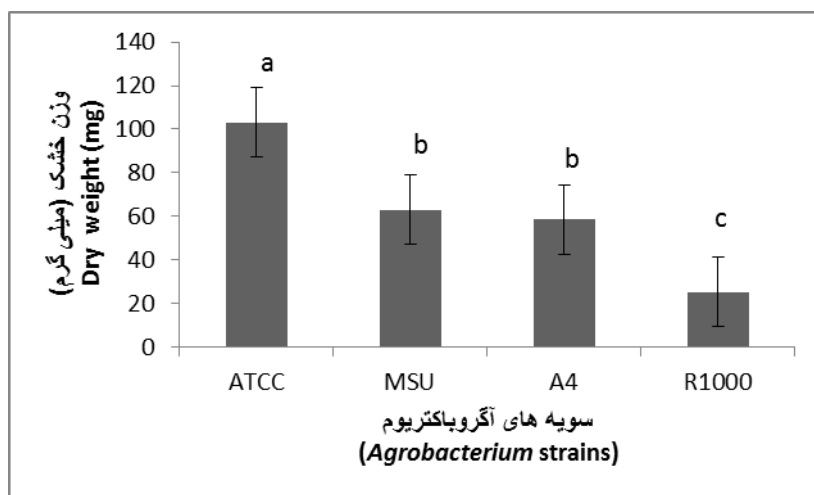
طبق نتایج حاصل از این پژوهش، محتوای فنل کل در تمام ریشه‌های موئین بالاتر از ریشه‌های غیرموئین (شاهد) بود و در ریشه‌های موئین القا شده با سویه *ATCC-15834*، حدود ۴/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های قبلی مطابقت دارد

شماره ۲۹۵۸۹ انجام گرفته است. از پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی مشهد برای تامین استوک باکتری و مرکز زیست فناوری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد برای فراهم سازی امکانات جهت انجام آنالیز مولکولی PCR قدردانی می شود.

تحقیق، اطلاعات مناسبی را جهت تولید ریشه های موپین و سنتز ترکیبات فنلی ارزشمند، فراهم می سازد.

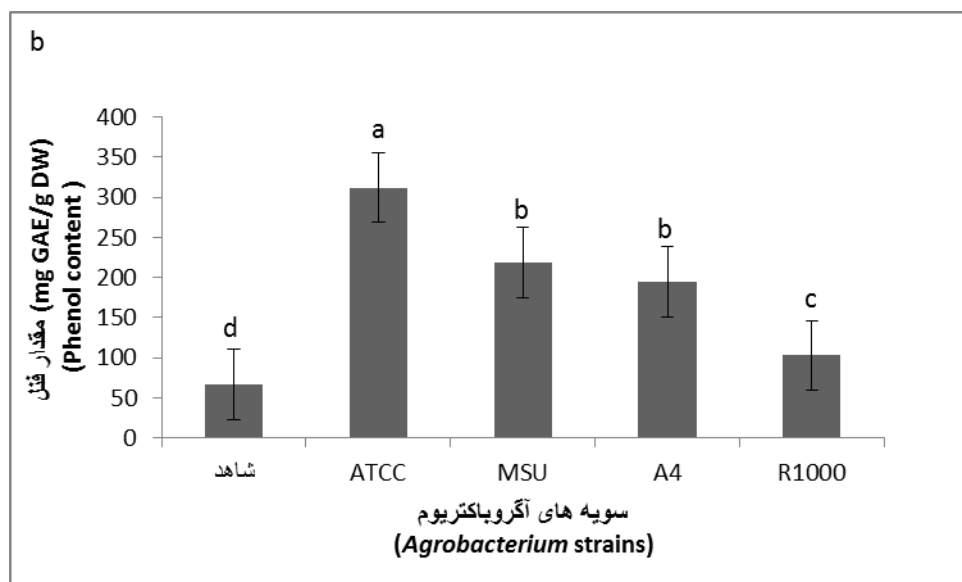
سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح شماره ۳ دانشگاه فردوسی مشهد به



شکل ۳- اثر سویه های مختلف باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز بر مقدار وزن خشک ریشه موپین ریحان (*Ocimum basilicum*) (۶۰ روز پس از تلقیح)

Figure 3- Effect of different strains of *A. rhizogenes* on dry weight of hairy root of *O.basilicum* (after 60 days of co-cultivation). (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۴- اثر سویه های مختلف باکتری آگروباکتریوم رایزوزنز بر مقدار فنل کل ریشه موپین ریحان (*Ocimum basilicum*) (۶۰ روز پس از تلقیح)

Figure 4- Effect of different strains of *A. rhizogenes* on total phenol content of hairy root of *O.basilicum* (after 60 days of co-cultivation). (DMRT, $p \leq 0.05$)

- 1- Ahmadi Moghadam Y., Piri K., Bahramnejad B., and Ghiasvand T. 2014. Dopamine production in hairy root cultures of *Portulaca oleracea* (Purslane) using *Agrobacterium rhizogenes*. Journal of Agricultural Science and Technology 16: 409-420.
- 2- Asada Y., Li W., Yoshikawa T. 1998. Isoprenylated flavonoids from hairy root cultures of *Glycyrrhiza glabra*. Phytochemistry 47: 389-392.
- 3- Bais H.P., Walker T.S., Schweizer H.B., and Vivanco J.M. 2002. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. Plant Physiology Biochemistry 40:983-95.
- 4- Bivadi V., Asghari Zakaria R., Zare N., and Yazdani B. 2014. Effects of different tissue culture conditions in hairy roots induction in *Hypericum perforatum* L. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 8(5): 597-604.
- 5- Bulgakov V.P., Vereshchagina Y.V., Bulgakov D.V., Veremeichik G.N., and Shkryl Y.N. 2018. The rolB plant oncogene affects multiple signaling protein modules related to hormone signaling and plant defense. Scientific Reports 28(1): 2285.
- 6- Chen H., and Chen F. 2000. Induction of phytoalexin formation in crown gall and hairy root culture of *Salvia miltiorrhiza* by methyl viologen. Biotechnology Letters 22(8): 715-720.
- 7- Chung I.M., Rekha K., Rajakumar G., and Thiruvengadam, M. 2016. Production of glucosinolates, phenolic compounds and associated gene expression profiles of hairy root cultures in turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*). 3 Biotech 6:175.
- 8- Danial M., Keng C.L., Alwee S.S., and Subramaniam S. 2011. Seed histology of recalcitrant *Eurycoma longifolia* plants during germination and its beneficial attribute for hairy roots production. Journal of Medicinal Plants Research 5(1): 93-98.
- 9- Danphitsanuparn P., Boonsnongcheep P., Boribonkaset T., Chintapakorn Y., and Prathanaturug S. 2012. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* strains and other parameters on production of isoflavonoids in hairy roots of *Pueraria candollei* Grah. Ex Benth. Var. *candollei*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 111: 315-322.
- 10- Farsi M., Moshtaghi N., Shahriari F.A., and Raeisi M. 2005. Investigation on growth stability and alkaloid content of transformed hairy roots in *Datura stramonium*. Agricultural Sciences and Technology 19(2): 47-56.
- 11- Gabr A.M., Sytar O., Ahmed A.R., and Smetanska I. 2012. Production of phenolic acid and antioxidant activity in transformed hairy root cultures of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences 6(7): 577-586.
- 12- Gandhi S., and Giri A. 2012. Genetic transformation of *Centella asiatica* by *Agrobacterium rhizogenes*. Journal of Pharmacognosy 3(2): 82-84.
- 13- Gangopadhyay M., Chakraborty D., Bhattacharyya S., and Bhattacharya S. 2010. Regeneration of transformed plants from hairy roots of *Plumbago Indica*. Plant cell tissue and organ culture 102(1): 109-114.
- 14- Gupta R., Pandey P., Singh S., Singh D.K., Saxena A., Luqman S., Bawankule D.U., and Banerjee S. 2015. Advances in *Boerhaavia* diffuse a hairy root technology: a valuable pursuit for identifying strain sensitivity and up-scaling factors to refine metabolite yield and bioactivity potentials. Protoplasma 253(4): 1145-1158.
- 15- Ionkova I., Karting T., and Alfermann W. 1997. Cycloartanesaponin production in hairy root cultures of *Astragalus mongholicus*. Phytochemistry 45: 1597-1600.
- 16- Jaber M., Sharafi A., Sharafi A.A., Azadi P., Kheiri-Manjili H., Danafar H., and Ahmadnia A. 2018. Genetically Transformed Root-Based Culture Technology in Medicinal Plant *Cosmos bipinnatus*. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 13(1): e67182.
- 17- Karam N.S., Jawad F.M., Arikat N.A., and Shibli R.A., 2003. Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension, and root cultures of wild *Salvia fruticosa*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 73: 117-121.
- 18- Khalili S., Moieni A., and Abdoli M. 2014. Influence of different strains of *Agrobacterium rhizogenes*, culture medium, age and type of explant on hairy root induction in *Echinacea angustifolia*. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding 3(1): 49-56.
- 19- Khezerluo M., Hosseini B., and Amiri J. 2018. Sodium nitroprusside stimulated production of tropane alkaloids and antioxidant enzymes activity in hairy root culture of *Hyoscyamus reticulatus* L. Acta Biologica Hungarica 69(4): 437-448.
- 20- Kumar V., Desai D., and Shriram V. 2014. Hairy root induction in *Helictere sisora* L. and production of Diosgenin in hairy roots. Natural Products and Bioprospecting 4: 107-112.
- 21- Lee S.Y., Cho S.I., Park M.H., Kim Y.K., Choi J.E., and Park S.U. 2007. Growth and rutin production in hairy root cultures of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). Preparative Biochemistry and Biotechnology 37(3): 239-246.
- 22- Lee S.Y., Xu H., Kim Y.K., and Park S.U. 2008. Rosmarinic acid production in hairy root cultures of *Agastache rugosa* Kuntze. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 969-972.
- 23- Lee S.U., Kimi S.U., Song W.S., Kim Y.K., Park N.I., and Park S.U. 2010. Influence of different strains of

- Agrobacterium rhizogenes* on hairy root induction and production of alizarin and purpurin in *Rubiaakane* Nakai. Romanian Biotechnological Letters 15(4): 5405-5409.
- 24- Majumdar S., Garai S., and Jha S. 2011. Genetic transformation of *Bacopa monnieri* by wild type strains of *Agrobacterium rhizogenes* stimulates production of bacopasaponins in transformed calli and plants. Plant Cell Reports 30(5): 941-954.
- 25- Mateus L., Cherkaout S., Christen P., and Oksman-Caldentey K.M. 2000. Simultaneous determination of scopolamine, hyoscyamine and littorine in plants and different hairy root clones of *Hyoscyamus muticus* by micellar electrokinetic chromatography. Phytochemistry 54: 517-523.
- 26- Modnicki D., and Balcerk M. 2009. Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. commercial samples. Herba Polonica 55(1): 35-42.
- 27- Moehninsi A. and Navarre D.A. 2018. Optimization of Hairy Root Induction in *Solanum tuberosum*. American Journal of Potato Research 95(6): 650-658.
- 28- Mohiuddin A.M., Cabdullah Z., Chowdhury K., Harikrishna K., and Napis S. 2011. Enhanced virulence gene activity of *Agrobacterium* in Muskmelon (*Cucumis melo* L.) cv. 'Birdie'. Notulae Scientia Biologicae 3: 71-79.
- 29- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Plant Physiology 15: 473-497.
- 30- Park S.U., Kim Y.K., and Lee S.Y. 2009. Establishment of hairy root culture of *Rubiaakane* Nakai for alizarin and purpurin production. Scientific Research and Essay 4(2): 094-097.
- 31- Park N.I., Xiaohua L., Uddin R.M., and Park S.U. 2011. Phenolic compound production by different morphological phenotypes in hairy root cultures of *Fagopyrum tataricum* Gaertn. Archives of Biological Sciences 63(1): 193-198.
- 32- Rahnema H. 2007. Silimarin production using hairy root culture of *Silybum marianum*. In: Proceedings of Symposium of Medicinal Plants. Iran, Shahed University, 554-573. (In Persian with English abstract)
- 33- Scagel C.F., and Lee J. 2012. Phenolic composition of basil plants is differentially altered by plant nutrient status and inoculation with mycorrhizal fungi. Horticultural Science 47:660-671.
- 34- Sharafi A., Sohi H.H., Mousavi A., Azadi P., Razavi K., and Ntui V.O. 2013. A reliable and efficient protocol for inducing hairy roots in *Papaver bracteatum*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 113: 1-9.
- 35- Sharma M., Ahujab A., Guptac R., and Mallubhotla S. 2014. Enhanced bacoside production in shoot cultures of *Bacopa monnieri* under the influence of abiotic elicitors. Natural Product Research 29(8): 745-749.
- 36- Sharp P.I., Kries M., Shewry P.R., and Gale M.D. 1988. Location of β -amylase sequences in wheat and its relatives. Theoretical and Applied Genetics 75(2): 286-290.
- 37- Singleton V.L., and Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of enology and viticulture 16:144-158.
- 38- Srivastava S., Cahill D.M., Conlan X.A., and Adholeya A. 2014. A novel in vitro whole plant system for analysis of polyphenolics and their antioxidant potential in cultivars of *Ocimum basilicum*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62(41): 10064-10075.
- 39- Srivastava S., Conlan X.A., Adholeya A., and Cahill D.M. 2016. Elite hairy roots of *Ocimum basilicum* as a new source of rosmarinic acid and antioxidants. Plant Cell Tissue Organ Culture 126: 19-32.
- 40- Stojakowska A., Malarz J., Szewczyk A., and Kisiel W. 2012. Caffeic acid derivatives from a hairy root culture of *Lactucaviroso*. Acta Physiologiae Plantarum 34(1): 291-298.
- 41- Sudha C.G., Sherina T.V., Anand V.P., Reji J.V., Padmesh P., and Sonia E.V. 2012. *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation of the medicinal plant *Decalepis arayalpathra* and production of 2-hydroxy-4-methoxy benzaldehyde. Plant Cell Tissue and Organ Culture 112: 217-226.
- 42- Sujatha G., Zdravkovic-Korac S., Calic D., Flamini G. and Ranjitha Kumari B.D. 2013. High-efficiency *Agrobacterium rhizogenes*-mediated genetic transformation in *Artemisia vulgaris*: Hairy root production and essential oil analysis. Industrial Crops and Products 44: 643-652.
- 43- Tenea G.N., Calin A., Gavrilă L., and Cucu N. 2008. Manipulation of root biomass and biosynthetic potential of *Glycyrrhiza glabra* L. plants by *Agrobacterium rhizogenes* mediated transformation. Romanian Biotechnological Letters 13(5): 3922-3932.
- 44- Thilip C., Raju C.S., Varutharaju K., Aslam A., and Shajahan A. 2015. Improved *Agrobacterium rhizogenes*-mediated hairy root culture system of *Withania somnifera* L. Dunal using sonication and heat treatment. 3Biotech 5(6):949-956.
- 45- Tiwari R.K., Trivedi M., Guang Z.C., Guo G.Q., and Zheng G.C. 2007. Genetic transformation of *Gentiana macrophylla* with *Agrobacterium rhizogenes*: growth and production of secoiridoid glucoside gentiopicroside in transformed hairy root cultures. Plant Cell Reports 26:199-210.
- 46- Wise A., Liu Z., and Binns A.N. 2006. Culture and maintenance of *Agrobacterium* strains methods in molecular biology, *Agrobacterium* Protocols 343: 3-13.
- 47- Zehra M., Banerjee S., Sharma S., and Kumar S. 1999. Influence of *Agrobacterium rhizogenes* strains on biomass and alkaloid productivity in hairy root lines of *Hyoscyamus muticus* and *H. albus*. Planta Medica 64: 60-63.



Influence of Different *Agrobacterium rhizogenes* Strains on Hairy Roots Induction and Secondary Metabolites Production in *Ocimum basilicum* L.

M. Zare Hasan Abadi¹- A. Ganjeali^{2*}- M. Lahouti³- N. Moshtaghi⁴

Received: 31-07-2019

Accepted: 06-05-2020

Introduction: *Agrobacterium rhizogenes* hairy roots induction is used for secondary metabolite production in plants. *A. rhizogenes* is a genus of gram-negative soil bacteria belonging to the Rhizobiaceae family that causes hairy roots at the site of infection. Hairy roots have various advantages, including high growth rate, more genetic stability than the callus and suspension cultures, growing well on hormone-free media that have been reported effective for producing high levels of secondary metabolites. Basil (*Ocimum basilicum*) is a popular herb with important economical applications in food, cosmetic, and pharmaceutical industry. It is a digestive stimulant with anticarcinogenic, antibacterial, and anticonvulsant properties. The main phenolics reported in basil plants are in the classes of phenolic acids and flavonoids, some of which have human health benefits. This study was designed to develop hairy root culture from *O. basilicum* using different of *A. rhizogenes* strains for the production of total phenols and introduce the best strain of *A. rhizogenes* to induce hairy root and growth and production of total phenol.

Materials and Methods: Different *A. rhizogenes* strains (ATCC-15834, A4, MSU, and R1000) were studied to investigate their effects for the transformation and production of secondary metabolites in *O. basilicum*. Therefore, shoot and leaf explants and nodes of the seedlings were used for *Agrobacterium*-mediated transformation. These explants were inoculated with four *A. rhizogenes* strains and transferred to ½ MS medium. About four weeks after cultivation with *A. rhizogenes*, hairy roots were excised from the seedlings and subcultured to fresh medium MS liquid culture containing 500 mg/l cefotaxime. After 60 days of inoculation, various parameters, including dry weight, infection percentage, number of hairy roots per explant, and total phenol contents were measured. The growth rate and phenolic contents of the transformed hairy roots were compared with normal ones. Total genomic DNA was isolated from non-transgenic and transgenic hairy root lines using the Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) method. Isolated genomic DNA was used to detect the *rolC* gene through polymerase chain reaction (PCR) analysis. The PCR using specific primers for *rolC* of T-DNA and *virD2* was used to confirm the nature of resulted transgenic hairy roots.

Results and Discussion: Selecting efficient *A. rhizogenes* strains, as well as the type of explants, are crucial factors for hairy root induction. All used *A. rhizogenes* strains were able to produce hairy roots. Hairy roots appeared on the nodes at the point of injection, but were not forming on the shoot and leaf explants. So, the choice of the plant material is crucial for successful transformation with *A. rhizogenes* and usually, transformation of young tissues gives the best results. The transgenic status of the hairy roots was confirmed using PCR with *rolC* and *virD* specific forward and reverse primers. All lines showed the presence of 612 bp *rolC* amplified products, indicating the integration of T-DNA of *A. rhizogenes* and *O. basilicum*. Hairy roots could synthesize phenolic compounds, which was significantly higher in hairy roots than non-transformed control. Four hairy root lines were independently evaluated for their content and these lines showed variation in total phenolic contents, with the highest amount (312 mgGAE/ g DW) in hairy roots induced by ATCC-15834 strain and the lowest amount (113.2 mgGAE/ g DW) in hairy roots induced by R1000 strain. The results showed that the strain ATCC-15834 caused the highest infection percentage (68.1%) along with the highest number of hairy roots (4.8) per explant and root length (1.8 cm). The growth rate and phenolics production were investigated in each hairy root of *O. basilicum* from infection by four different *A. rhizogenes* strains. The highest growth rate (103.2 mg DW) and production of total phenol (312 mg/g DW) were found in ATCC-15834. The growth rate of transformed hairy roots was more than that of normal ones. Total phenol contents in all hairy roots were also increased significantly compared with non-transformed control plants (4.6 times in hairy roots induced by *A. rhizogenes* strain ATCC-15834). ATCC-15834 has been reported as the most widely used *A. rhizogenes* strain owing to its strong induction ability, and the variation in hairy root induction could be due to disparity in

1, 2 and 3- Ph.D. Student at Plant Physiology, Associate Professor and Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.

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

4- Associate Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad

the virulence of different *A. rhizogenes* strains.

Conclusion: The hairy roots of *O. basilicum* had shown promising results in terms of significant yield of phenolic contents and had the potential for being scaled-up further for phenol production. It could be concluded that *A. rhizogenes* strains had different abilities in hairy roots induction. Therefore, the selection of an effective *A. rhizogenes* strain for the production of transformed root cultures is important, highly dependent on the plant species, and must be determined in future experiments.

Keywords: *Agrobacterium rhizogenes*, Hairy root, *Ocimum basilicum*, Total phenol



مقاله علمی-پژوهشی

اثر سطوح مختلف نیتروژن بر عملکرد، محتوای نیترات، عملکرد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی چهار رقم ریحان

فرج موبدی^{۱*} - سجاد کردی^۲ - علی اشرف مهربانی^۳ - سهیلا دست برهان^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۰

چکیده

به منظور ارزیابی عملکرد، محتوای نیترات، عملکرد اسانس و برخی صفات فیزیولوژیکی چهار رقم ریحان، آزمایشی به صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی خرم آباد اجرا گردید. فاکتور اول آزمایش شامل ارقام مختلف ریحان (*O. basilicum* var. Italian Large Leaf، *O. basilicum* var. Mobarakeh، *O. basilicum* var. Sweet Thai و *O. basilicum* var. Cinnamon)، فاکتور دوم کاربرد کود شیمیایی نیتروژن (اوره) در سه سطح شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن)، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی اوره و فاکتور سوم برداشت گیاه ریحان در ۳ سطح شامل برداشت اول، برداشت دوم و برداشت سوم بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در رقم Italian Large Leaf با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در برداشت دوم بیشترین میزان عملکرد خشک و نیترات حاصل شد. کمترین تعداد شاخه جانبی، درصد برگ، کلروفیل b و عملکرد اسانس متعلق به رقم Mobarakeh بود. بیشترین و کمترین عملکرد اسانس به ترتیب به تیمارهای ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره و شاهد مربوط بود. بر اساس نتایج این تحقیق، رقم Italian Large Leaf به همراه کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره برای دستیابی به رشد و عملکرد کمی و کیفی قابل قبول ریحان تحت شرایط آب و هوایی خرم آباد توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، اوره، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ریحان، وزن خشک

مقدمه

به‌عنوان سبزی، ادویه و همچنین گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. منشأ ریحان را ایران، هند و افغانستان می‌دانند (۲۲). جنس *Ocimum* شامل بیش از ۱۵۰ گونه است و رشد گسترده‌ای در مناطق معتدل جهان دارد (۲۳). در بین گونه‌های مختلف این جنس، گونه *O. basilicum* L. اقتصادی‌ترین گونه بوده و در سراسر جهان کاشته می‌شود (۱۵). فاکتورهای زراعی بر عملکرد کمی و کیفی گیاهان دارویی از جمله ریحان تأثیر قابل ملاحظه‌ای دارند که از این فاکتورها می‌توان به تغذیه گیاه اشاره نمود. با پیدایش انقلاب سبز و تولید ارقام کودپذیر، مصرف کودهای شیمیایی به سرعت افزایش یافت. آمارها نشان می‌دهند مصرف سالانه کودهای شیمیایی در جهان به‌طور چشمگیری در حال افزایش است (۲۵).

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد که در تشکیل بسیاری از ترکیبات آلی گیاهی نقش دارد (۸). این عنصر در ساختمان اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک، کلروفیل، آلکالوئیدها، بازهای پورینی و غیره وجود دارد. از اینرو کمبود نیتروژن

کشت سنتی گیاهان دارویی به‌منظور ایجاد تنوع و پایداری در نظام کشاورزی از دیرباز در کشور ما متداول بوده است (۱۸). در این میان، ریحان گیاهی اسانس‌دار از خانواده نعنائیان است که در سطح وسیعی از ایران کشت می‌گردد. ریحان مصارف گوناگونی دارد و

۱- مربی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد، خرم‌آباد، ایران

(*)- نویسنده مسئول: Email: faraj.moayedi1362@gmail.com

۲- دکترای اکولوژی گیاهان زراعی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد، ایران

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۴- دکترای فیزیولوژی گیاهان زراعی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

به کاهش میزان پروتئین‌ها، کارایی فتوسنتز، وزن خشک گیاه و تأخیر در رشد رویشی و زایشی گیاهان منجر می‌گردد (۷). در تحقیقی محتوای کلروفیل گیاه ریحان تحت تأثیر کود نیتروژن قرار گرفت و در تمامی تیمارهایی که از کود نیتروژن استفاده شده بود، محتوای کلروفیل بیشتر از تیمار شاهد (عدم کاربرد نیتروژن) بود، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل کل به‌ترتیب به تیمار ۱۰۰٪ کود شیمیایی نیتروژن و تیمار شاهد (عدم کاربرد نیتروژن) اختصاص یافت (۱۱). در پژوهشی دیگر گزارش گردید که نیتروژن اثر معنی‌داری بر عملکرد ماده خشک ریحان در واحد سطح داشت و بیشترین و کمترین عملکرد ماده خشک در واحد سطح به‌ترتیب در تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی نیتروژن و تیمار شاهد (بدون مصرف کود نیتروژن) حاصل شد (۱۲). تجمع نیترات در گیاه زمانی بیشتر است که گیاه قادر به تبدیل آن نباشد و این مسئله عمدتاً با کمبود رطوبت، نیتروژن زیاد در خاک و زمان برداشت ارتباط دارد. نیتروژن یکی از اجزای اصلی پروتئین‌ها می‌باشد. هنگامی که گیاه در شرایط غیرعادی رشد می‌نماید، تولید پروتئین کاهش یافته و نیتروژن به‌شکل غیرپروتئینی در گیاه تجمع می‌یابد (۳۲). به‌دلیل اثرات سوء نیترات بر سلامتی انسان، امروزه توجه زیادی به‌میزان تجمع نیترات در سبزیجات شده و تجمع نیترات به‌عنوان یکی از شاخص‌های بیولوژیکی کیفی سبزیجات در نظر گرفته می‌شود (۱۹). در تحقیقی اثر سطوح مختلف کود نیتروژن بر محتوای نیترات برگ ریحان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش مصرف کود نیتروژن، میزان تجمع نیترات در برگ افزایش یافت. بیشترین میزان نیترات با مصرف ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن خالص به‌دست آمد و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد مشاهده گردید (۱۷). کودهای شیمیایی اگرچه باعث بهبود رشد و افزایش عملکرد محصولات باغی و زراعی می‌شوند، اما از طرفی مصرف بیش از اندازه نهاده‌های شیمیایی از جمله کود نیتروژن، پیامدهایی از جمله آلودگی‌های محیط زیست، از بین رفتن تنوع زیستی و تخریب اکوسیستم‌های طبیعی را به دنبال دارد (۵). لذا تعیین مقدار مناسب مصرف کود نیتروژن که علاوه بر تولید محصول با عملکرد کمی و کیفی مناسب، از مصرف بیش از حد

مورد نیاز کود نیتروژن جلوگیری نماید، ضروری به نظر می‌رسد. از سوی دیگر تاکنون عملکرد، میزان نیترات، عملکرد اسانس و ویژگی‌های فیزیولوژیکی ارقام مورد ارزیابی در این تحقیق که مربوط به نقاط مختلف جهان می‌باشند، تحت شرایط آب و هوایی یکسان مورد ارزیابی قرار نگرفته است. بنابراین این آزمایش با هدف تعیین مناسب‌ترین مقدار کود نیتروژن و همچنین معرفی بهترین رقم ریحان از لحاظ ویژگی‌های کمی، کیفی و فیزیولوژیکی در شرایط آب و هوایی خرم آباد انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقاتی سراب چنگایی خرم‌آباد با طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۱۷ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۳ درجه و ۲۷ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۱۶۲ متر از سطح دریا به‌صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. جدول ۱، داده‌های هواشناسی را در طول آزمایش در ایستگاه هواشناسی خرم‌آباد نشان می‌دهد. فاکتور اول ارقام مختلف ریحان (*O. basilicum* var *O. basilicum* var Mobarakeh، *O. basilicum* var *Italian Large Leaf*، *O. basilicum* var *Sweet Thai* و *O. basilicum* var *Cinnamon*)، فاکتور دوم کاربرد کود شیمیایی نیتروژن (اوره) در سه سطح شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن)، ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار، و فاکتور سوم در سه سطح شامل برداشت اول، برداشت دوم و برداشت سوم بود. رقم Mobarakeh از موسسه پاکان بذر اصفهان و سه رقم خارجی ریحان از شرکت Eden Brothers کشور آمریکا تهیه شدند. برای تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری شش نقطه زمین، به‌طور تصادفی نمونه‌هایی از خاک برداشت شد و سپس نمونه‌ها با هم مخلوط و به یک نمونه تبدیل شدند و ویژگی‌های آن به شرح جدول ۲ تعیین گردید.

جدول ۱- آمار ماهیانه ایستگاه هواشناسی خرم‌آباد در دوره آزمایش در سال ۱۳۹۵

Table 1- Khorramabad meteorological station monthly statistics in the experiment period in 2016

ماه Month	بارندگی Precipitation (mm)	تعداد روزهای بارانی Number of rainy days	میانگین دما Average temperature (°C)	حداکثر دما Maximum temperature (°C)	حداقل دما Minimum temperature (°C)
Mar	51.4	9	13.7	21.2	6.1
Apr	14.5	5	20.0	29.4	10.5
May	0.2	1	26.4	37.3	15.6
Jun	0.3	1	30.2	40.2	20.4
Jul	0.0	0	30.7	41.0	20.4
Aug	17.0	1	26.8	36.2	17.4
Sep	14.0	3	21.6	30.7	12.4

جدول ۲- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه پیش از اجرای آزمایش
Table 2- Physical and chemical analysis of soil before the experiment

پتاسیم قابل جذب K (mg kg ⁻¹)	فسفر قابل جذب P (mg kg ⁻¹)	نیتروژن کل Total N (%)	هدایت الکتریکی EC (dS.m ⁻¹)	اسیدیته pH	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	بافت خاک Soil texture
350	7	0.289	0.546	7.56	26.98	40.5	32.52	لومی-رسی clay loam

کلونجر استفاده شد. برای اسانس‌گیری ابتدا نمونه‌های گیاهی که شامل برگ و سرشاخه‌های جوان بودند در سایه خشک شدند. سپس ۴۰ گرم از پودر گیاه خشک در یک بالون ریخته شد و حدود ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس با اتصال بالن به دستگاه کلونجر، عمل تقطیر به مدت ۴ ساعت انجام شد. در پایان اسانس‌گیری، اسانس استخراج شده توسط سولفات سدیم بی‌آب آب‌گیری شده و در ظروف دربسته شیشه‌ای تیره رنگ، دور از نور و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. اسانس‌گیری نمونه‌ها در سه تکرار و برای هر برداشت بصورت جداگانه انجام شد. عملکرد اسانس هم از حاصل ضرب درصد اسانس و عملکرد خشک به‌دست آمد. برای سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، ابتدا ۰/۱ گرم از برگ ریحان توزین گردید و پس از خرد شدن با ازن مایع در هاون چینی، با ۱۰ میلی‌لیتر استون خالص مخلوط گردید و عصاره به‌دست آمده در فالدون ریخته شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. استون به‌عنوان محلول شاهد برای تنظیم صفر جذب نوری اسپکتروفتومتر استفاده گردید. در نهایت میزان کلروفیل (Chla)، کلروفیل b (Chlb)، کلروفیل کل (Chla+b) و کاروتنوئید (Carotenoid) برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر به‌ترتیب از طریق روابط ۱ تا ۴ محاسبه شدند (۱۳).

$$\text{Chla} = (11.24 \times A_{662}) - (2.04 \times A_{645}) \quad (۱)$$

$$\text{Chlb} = (20.13 \times A_{645}) - (4.19 \times A_{662}) \quad (۲)$$

$$\text{Chla+b} = 7.05 \times A_{662} + 18.09 \times A_{645} \quad (۳)$$

$$\text{Car} = (1000 \times A_{470} - 1.90 \text{ Chla} - 63.14 \text{ Chlb}) / 214 \quad (۴)$$

برای اندازه‌گیری نیترات ابتدا نمونه‌های گیاهی که شامل برگ و سرشاخه‌های جوان بودند، در اوایل گلدهی برداشت و سپس در سایه خشک شدند. اندازه‌گیری نیترات با دستگاه آیون سلکتیو و با الکترود اختصاصی نیترات ساخت شرکت متروهم سوئیس انجام شد. برای کالیبره کردن دستگاه از استانداردهای ۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات استفاده گردید. برای جلوگیری از تغییر غلظت نیترات عصاره‌ها، اندازه‌گیری نیترات به‌طور همزمان با عصاره‌گیری انجام شد (۲). اندازه‌گیری نیترات نمونه‌ها در سه تکرار و برای هر برداشت بصورت جداگانه انجام گردید.

مصرف کودهای شیمیایی شامل N و P به ترتیب از منابع اوره و سوپرفسفات تریپل (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) بر اساس نتایج آزمون خاک صورت گرفت. کود فسفر قبل از کاشت به‌طور یکنواخت در کل مزرعه توزیع و کود نیتروژن فقط در تیمارهای مورد نظر استفاده گردید. یک دوم نیتروژن کل در زمان کاشت و مابقی به صورت سرک و بعد از برداشت اول به کار برده شد. در هر دو مرحله، کاربرد کود نیتروژن در خاک به‌صورت نواری صورت گرفت. عملیات تهیه بستر بذر شامل شخم، دیسک و ماله‌کشی بود. کشت بذر به‌صورت مستقیم در اوایل خرداد ماه با در کرت‌هایی با فاصله ردیف‌های کاشت ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲/۵ سانتی‌متر انجام شد. بدین ترتیب تراکم به ۸۰ بوته در متر مربع رسید. هر کرت آزمایشی شامل ۵ ردیف کاشت و به طول ۲ متر بود. برای جلوگیری از نشت نیتروژن، بین کرت‌های مجاور یک ردیف نکاشت در نظر گرفته شد. در مجموع ابعاد هر کرت ۲ در ۲/۵ متر مربع تعیین گردید. آبیاری مزرعه با در نظر گرفتن شرایط جوی و نیاز گیاه و مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت دستی انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی در بوته، تعداد گل آذین در بوته، درصد برگ، عملکرد خشک، عملکرد اسانس، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و میزان نیترات گیاه بود. برداشت گیاه ریحان در سه نوبت و در اوایل مرحله گل‌دهی انجام شد. برداشت اول در اواسط تیر، برداشت دوم در اواسط مرداد و برداشت سوم در اواخر شهریور صورت گرفت. بدین صورت که در هر کرت، نمونه‌گیری از ردیف‌های وسط و پس از حذف اثرات حاشیه‌ای انجام گرفت و اندام‌های هوایی از نزدیکی سطح زمین قطع و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس به مدت ۴۸ ساعت در آونی با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و وزن خشک آن‌ها نیز یادداشت گردید. برای تعیین ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی و تعداد گل آذین در بوته، در هر برداشت پنج بوته به‌طور تصادفی از هر کرت انتخاب و اندازه‌گیری شد و میانگین مشاهدات برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت. برای محاسبه درصد برگ ریحان، ۱۵ بوته به‌طور تصادفی از ردیف‌های میانی هر کرت برداشت گردید و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها بلافاصله از گیاه جدا شده و وزن تر آن‌ها نیز ثبت گردید. با توجه به نسبت وزن برگ به وزن کل بوته‌ها، درصد برگ محاسبه شد. برای استخراج اسانس، از روش تقطیر با آب و دستگاه

داده‌ها و خطاهای آزمایشی از نظر توزیع نرمال و همچنین تیمارهای آزمایشی برای همسانی واریانس‌ها با استفاده از نرم‌افزار ver. 14 Minitab مورد آزمون قرار گرفتند. برای تجزیه واریانس آنوای داده‌ها از نرم‌افزار SAS ver. 9 استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel و میله‌های خطای آزمایشی (Error Bars) بر اساس SE رسم گردید.

نتایج و بحث

تعداد شاخه جانبی در بوته

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که اثر تیمارهای رقم، کود و برداشت بر تعداد شاخه جانبی در بوته معنی‌دار بود، اما برهم‌کنش تیمارها بر این صفت معنی‌دار نبود (جدول ۳). در بین ارقام مورد ارزیابی، رقم Sweet Thai بیشترین (۸/۰۹) و رقم Mobarakeh کمترین (۶/۸) تعداد شاخه جانبی در بوته را داشتند، با این وجود بین رقم Sweet Thai و ارقام Cinnamon و Italian Large Leaf از لحاظ تعداد شاخه جانبی در بوته اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). کاربرد کود نیتروژن سبب افزایش تعداد شاخه جانبی در بوته گردید و کاربرد ۲۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره به‌ترتیب با میانگین‌های ۸/۷۵ و ۸/۱۶ بیشترین تعداد شاخه در بوته را تولید کردند و در یک گروه آماری قرار گرفتند، اما تیمار شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن) با میانگین ۶/۱۶ دارای کمترین مقدار بود و اختلاف معنی‌داری با مقادیر مختلف کاربرد کود نیتروژن داشت (جدول ۴). در بین برداشت‌ها نیز برداشت سوم با میانگین ۹/۱۲ دارای بیشترین تعداد شاخه فرعی در بوته بود (جدول ۴). بهبود بستر رشد و افزایش رشد رویشی گیاه به‌خصوص تا پیش از مرحله گل‌دهی، می‌تواند منجر به ظهور شاخه‌های فرعی بیشتر در گیاه شود. کود شیمیایی نیتروژن با فراهم کردن نیتروژن مورد نیاز گیاه ریحان در طی فصل رشد، شرایط مناسبی را در جهت تولید شاخه فرعی بیشتر بوجود آورد. در پژوهشی گزارش گردید که کاربرد کود نیتروژن منجر به افزایش تعداد شاخه فرعی در گیاه ریحان نسبت به تیمار شاهد گردید (۳۰). در تحقیقی دیگر، بیشترین تعداد شاخه فرعی در گیاه ریحان در برداشت سوم مشاهده شد. افزایش تعداد شاخه‌های جانبی در برداشت‌های دوم و سوم نسبت به برداشت اول به دلیل بریدن ساقه اصلی طی برداشت اول و برانگیخته شدن جوانه‌های جانبی می‌باشد که منجر به افزایش ساقه‌های فرعی می‌شود (۹).

تعداد گل‌آذین در بوته

تعداد گل‌آذین در بوته تحت تأثیر تیمارهای رقم، کود و برداشت

قرار گرفت، همچنین برهم‌کنش رقم × برداشت و کود × برداشت بر این صفت معنی‌دار گردید (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین مربوط به برهم‌کنش رقم × برداشت نشان داد که رقم Cinnamon در برداشت سوم بیشترین تعداد گل‌آذین در بوته (۷/۴) را به خود اختصاص داد (شکل ۱). در این پژوهش در همه سطوح برداشت، مصرف کودهای نیتروژنی باعث افزایش تعداد گل‌آذین در بوته گردید که در این بین با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره در برداشت سوم بیشترین گل‌آذین در بوته (۷/۷۶) تولید شد (شکل ۲). کاربرد کود شیمیایی نیتروژن منجر به بهبود اکثر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه ریحان شد که این امر در افزایش تعداد گل‌آذین در بوته مؤثر است. نتایج تحقیقی نشان داد که کاربرد کود نیتروژن در تمام سطوح برداشت سبب افزایش معنی‌دار تعداد گل‌آذین در بوته نسبت به تیمار شاهد (عدم کوددهی) گردید (۱۱). با توجه به اینکه مصرف کود نیتروژن تعداد شاخه در بوته را افزایش داد (جدول ۴)، افزایش تعداد شاخه‌های گل‌دهنده در بوته و به دنبال آن افزایش تعداد گل‌آذین در بوته منطقی به‌نظر می‌رسد. در برداشت سوم نیز به دلیل رشد و توسعه بیشتر گیاه و همچنین افزایش تعداد شاخه جانبی در بوته (جدول ۴)، تعداد گل‌آذین در بوته نسبت به سایر برداشت‌ها بیشتر بود.

ارتفاع بوته

ارتفاع بوته به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم، کود و برداشت قرار گرفت، اما برهم‌کنش تیمارها بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، رقم Mobarakeh دارای بیشترین ارتفاع بوته (۵۶/۳۷ سانتی‌متر) بود (جدول ۴). مصرف مقادیر مختلف کود نیتروژن سبب افزایش ارتفاع گیاه ریحان گردید. در بین تیمارهای کودی هم بیشترین (۵۷/۴۵ سانتی‌متر) و کمترین ارتفاع بوته (۴۹/۵۴ سانتی‌متر) به‌ترتیب متعلق به تیمارهای کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره و شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن) بود (جدول ۴). در بین برداشت‌های مختلف، بیشترین ارتفاع بوته (۵۵/۱۱ سانتی‌متر) به برداشت دوم اختصاص یافت (جدول ۴). از آنجایی که کمبود عناصر غذایی یکی از عوامل اصلی در تعیین میزان ارتفاع گیاه است، به‌نظر می‌رسد که در تیمار شاهد (عدم مصرف کود نیتروژن)، گیاهان به‌علت کمبود مواد غذایی از رشد کمتری نسبت به سایر تیمارهای کودی برخوردار بودند. در مطالعه‌ای گزارش گردید که با کاربرد کودهای نیتروژنی، ارتفاع بوته ریحان افزایش یافت (۱۱). کاربرد کود نیتروژن موجب تغییر تعادل هورمون‌های گیاهی در بخش‌های رویشی گیاه می‌شود و با کاهش نسبت اسید آبسزیک بر جیبرلین باعث افزایش رشد رویشی و ارتفاع گیاه می‌گردد (۱۶).

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه ارقام ریحان تحت تاثیر سطوح مختلف نیتروژن در برداشت‌های مختلف
Table 3- Analysis of variance of basil cultivars characteristics affected by different levels of nitrogen in different harvest

منابع تغییر Sources of variation	درجه df	تعداد شاخه Number of branches per plant	تعداد کل آذین Number of inflorescences per plant	ارتفاع بوته Plant height	درصد برگ Leaf percentage	عملکرد خشک کل Total dry yield	عملکرد اسانس Essential oil yield	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	مقدار نیترات Nitrate rate
تکرار Replication	2	3.27	4.88	10.94	24.27	61975.13	13.99	0.001058	0.009350	0.001025	0.028485	439.58
رقم Cultivar (A)	3	9.67*	25.3**	203.5**	45.35**	865900.19**	2701.25**	0.320863**	0.046317**	0.654054**	0.083625**	1474281.71**
کود نیتروژن N Fertilizer (B)	2	66.69**	45.82**	590.59**	48.99**	5107691.31**	246.26**	0.869452**	0.061930**	1.459581**	0.068984**	875759.03**
رقم × کود A × B	6	1.59 ^{ns}	0.25 ^{ns}	3.86 ^{ns}	2.95 ^{ns}	83695.26**	7.36 ^{ns}	0.095556*	0.005939 ^{ns}	0.105028 ^{ns}	0.006904 ^{ns}	31553.47**
اشتباه آزمایش ۱ Error 1	22	2.11	1.42	4.63	2.07	20256.08	8.24	0.037146	0.003735	0.046712	0.008991	627.71
برداشت Harvest (C)	2	84.3**	158.98**	99.33**	329.85**	15436181.5**	3046.94**	0.047353**	0.010841**	0.135206**	0.003924*	209463.19**
رقم × برداشت A × C	6	0.18 ^{ns}	3.43**	1.57 ^{ns}	0.34 ^{ns}	58284.72**	207.93**	0.001267 ^{ns}	0.000864 ^{ns}	0.006957*	0.00020 ^{ns}	21498.38**
کود × برداشت B × C	4	0.00014 ^{ns}	3.21**	4.34 ^{ns}	1.14 ^{ns}	187653.87**	8.72 ^{ns}	0.000972 ^{ns}	0.0000002 ^{ns}	0.000012 ^{ns}	0.000000 ^{ns}	11705.56**
رقم × کود × برداشت A × B × C	12	0.00016 ^{ns}	0.07 ^{ns}	1.43 ^{ns}	0.97 ^{ns}	35986.78**	7.82 ^{ns}	0.001289 ^{ns}	0.0000002 ^{ns}	0.000014 ^{ns}	0.000000 ^{ns}	3444.44**
اشتباه آزمایش ۲ Error 2	4	0.13	0.21	1.06	4.39	17939.5	21.95	0.001469	0.000335	0.003231	0.000389	2018.40
اشتباه آزمایش ۳ Error 3	48	0.12	0.28	3.04	0.95	5865.42	8.26	0.003222	0.000539	0.002668	0.000956	432.67
ضرب تغییرات C.V. (%)	---	4.54	10.73	3.23	1.62	3.37	11.97	6.56	7.74	4.41	10.80	2.18

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد و ^{ns} عدم معنی داری را نشان می‌دهد.
***, * and ^{ns} show significant difference at 5%, 1% of probability levels and non-significant difference, respectively.

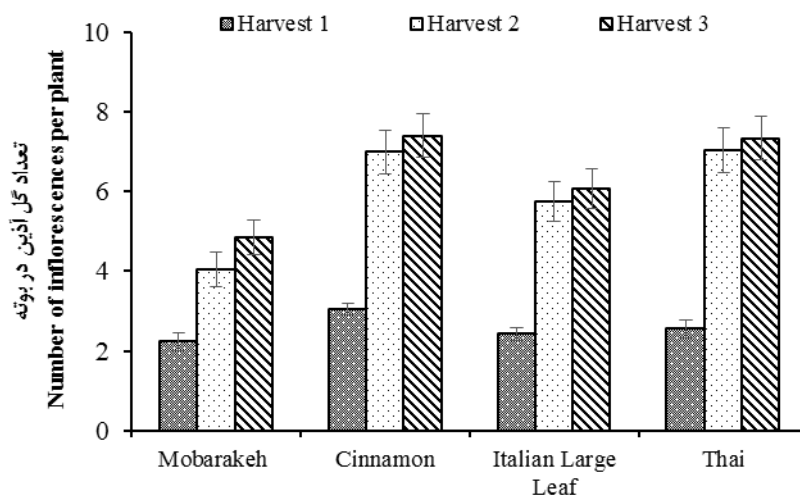
جدول ۴- اثرات ساده سطوح مختلف کود نیتروژن و نوبت برداشت بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ارقام مختلف ریحان

Table 4- The simple effects of nitrogen fertilizer and different harvest levels on some morphological and physiological traits of sweet basil cultivars

Treatments	تعداد شاخه جانبی در بوته Number of branches per plant	ارتفاع بوته Plant height (cm)	درصد برگ Leaf percentage	کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ FW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g ⁻¹ FW)
رقم Cultivar					
Mobarakeh	6.80 ^b	56.37 ^a	58.77 ^c	0.256 ^b	0.242 ^b
Cinnamon	7.98 ^a	50.25 ^c	60.21 ^b	0.335 ^a	0.317 ^a
Italian Large Leaf	7.89 ^a	55.69 ^a	61.86 ^a	0.273 ^b	0.236 ^b
Thai	8.09 ^a	53.71 ^b	59.68 ^b	0.336 ^a	0.349 ^a
کود اوره Urea (kg ha ⁻¹)					
Control	6.16 ^b	49.54 ^c	58.82 ^b	0.252 ^b	0.236 ^b
100	8.16 ^a	55.02 ^b	60.50 ^a	0.319 ^a	0.311 ^a
200	8.75 ^a	57.45 ^a	61.07 ^a	0.329 ^a	0.312 ^a
برداشت Harvest					
Harvest 1	6.08 ^c	52.09 ^b	62.96 ^a	0.319 ^a	0.279 ^b
Harvest 2	7.87 ^b	55.11 ^a	60.50 ^b	0.295 ^b	0.281 ^b
Harvest 3	9.12 ^a	54.81 ^a	56.94 ^c	0.285 ^b	0.298 ^a

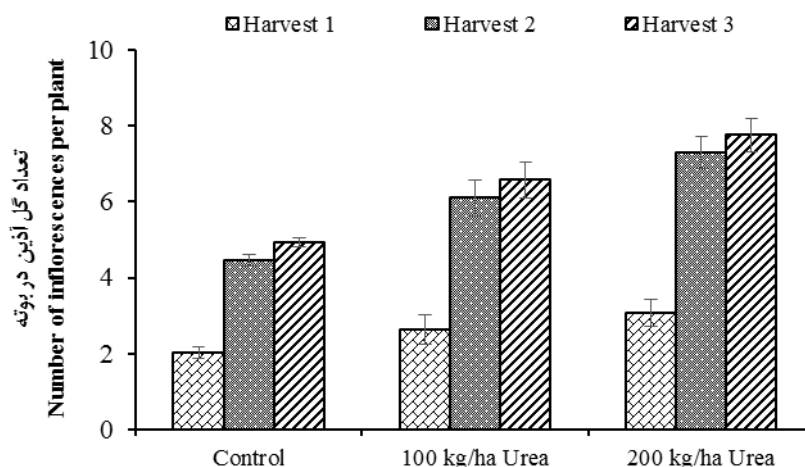
میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

The means in each column having the same letter are not significantly different at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.



شکل ۱- اثر متقابل رقم × برداشت‌های مختلف بر تعداد گل آذین در بوته ریحان

Figure 1- Interaction effect of cultivar × different harvests on number of inflorescences per plant of sweet basil (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- اثر متقابل کود نیتروژن × برداشت‌های مختلف بر تعداد گل آذین در بوته ریحان

Figure 2- Interaction effect of nitrogen fertilizer × different harvests on number of inflorescences per plant of sweet basil (DMRT, $p \leq 0.05$)

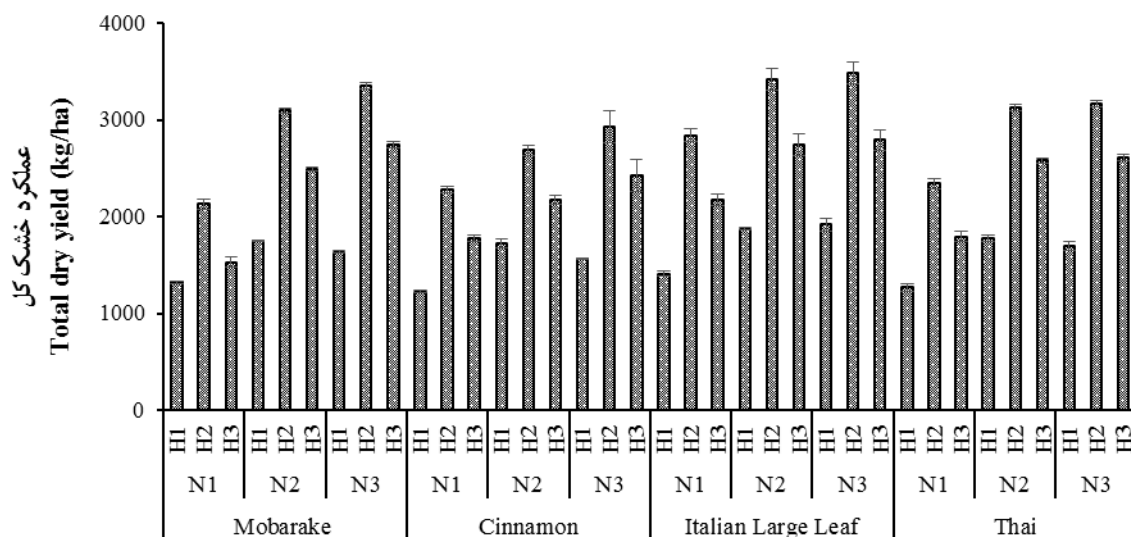
درصد برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها مشخص نمود که بین ارقام، مقادیر کود نیتروژن و برداشت‌های مختلف از لحاظ درصد برگ ریحان تفاوت معنی‌داری وجود داشت، اما برهم‌کنش تیمارها بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان‌دهنده برتری رقم Italian Large Leaf از نظر درصد برگ بود (جدول ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای کودی مشخص نمود که مصرف کود نیتروژن موجب افزایش درصد برگ در بوته گردید. بیشترین (۶۱/۰۷٪) و کمترین درصد برگ (۵۸/۸۲٪) به‌ترتیب به تیمارهای کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره و شاهد (عدم کاربرد کود نیتروژن) اختصاص داشت (جدول ۴). برداشت اول با میانگین ۶۲/۹۶٪ دارای بیشترین میزان درصد برگ در بین برداشت‌های مورد ارزیابی بود (جدول ۴). در تحقیقی اعلام گردید که با افزایش کاربرد کود نیتروژن، عملکرد برگ ریحان روند افزایشی داشت (۱). به دلیل بریدن ساقه اصلی در برداشت اول، جوانه‌های باقی مانده در روی گیاه برانگیخته شده که منجر به تولید ساقه‌های جانبی بیشتری در برداشت‌های دوم و سوم می‌گردد، بنابراین پایین بودن درصد برگ و افزایش سهم شاخه و ساقه در برداشت‌های دوم و سوم قابل انتظار بود.

عملکرد خشک کل

عملکرد خشک کل ریحان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای رقم، کود و برداشت قرار گرفت. همچنین تمامی برهم‌کنش‌های دوگانه و سه‌گانه تیمارهای آزمایش بر صفت مذکور

معنی‌دار گردید (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین مربوط به برهم‌کنش سه‌گانه تیمارهای رقم × کود × برداشت نشان داد که رقم Italian Large Leaf با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در برداشت دوم بیشترین عملکرد خشک (۳۴۸۲/۳۶ کیلوگرم در هکتار) را تولید نمود (شکل ۳). همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد مصرف مقادیر مختلف کود نیتروژن نسبت به تیمار شاهد (عدم مصرف کود نیتروژن) موجب افزایش چشمگیر عملکرد گیاه ریحان گردید، با این وجود در اکثر ارقام مورد ارزیابی، بین کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره از لحاظ عملکرد پیکر رویشی اختلاف قابل توجهی مشاهده نگردید. نیتروژن به دلیل نقش مهمی که در افزایش رشد رویشی گیاه دارد، در نهایت باعث افزایش عملکرد می‌شود. افزایش مصرف نیتروژن از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، منجر به افزایش فتوسنتز و تولید آسیمیلات بیشتر و در نهایت تولید ماده خشک و عملکرد بیشتر می‌شود (۱۴). در تمامی تیمارهای کودی، برداشت دوم از لحاظ عملکرد خشک کل نسبت به سایر برداشت‌ها برتر بود (شکل ۳). از آنجایی که همه برداشت‌ها در مرحله رشدی یکسان انجام گردید، لذا به نظر می‌رسد چون در برداشت اول، گیاهان فقط یک ساقه اصلی داشته و از رشد و توسعه کمتری برخوردار بودند، بنابراین تولید زیست توده کمتر در این برداشت قابل انتظار بود. از سوی دیگر در برداشت اول، گیاه ریحان مقداری از انرژی خود را برای استقرار صرف کرد، در حالی که در بازرویش پس از برداشت اول، ریحان بخشی از مسیر رشدی را قبلاً پیموده بود و بنابراین سریع‌تر استقرار یافت و ماده گیاهی بیشتری تولید کرد. در آزمایشی اعلام گردید که در تمام تیمارهای کودی مورد بررسی، میزان عملکرد خشک گیاه ریحان در برداشت دوم بیشتر از برداشت اول بود (۲۴).



شکل ۳- اثر متقابل رقم و کود نیتروژن در برداشت‌های مختلف بر عملکرد خشک کل ریحان

Figure 3- Interaction effect of cultivar × nitrogen fertilizer in different harvest on total dry yield of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)

N1, N2, N3: Control (0 kg ha^{-1} urea), 100 kg ha^{-1} urea, and 200 kg ha^{-1} urea, respectively and H1: first harvest, H2: second harvest and H3: third harvest

به‌دست آمد، اما با افزایش مصرف کود نیتروژن، عملکرد اسانس روند نزولی در پیش گرفت. با توجه به اینکه تیمار عدم کوددهی از درصد اسانس بیشتری نسبت به تیمارهای کود شیمیایی برخوردار بود (داده‌ها منتشر نشده)، دلیل برتری تیمارهای کود شیمیایی از نظر عملکرد اسانس را می‌توان این‌گونه توجیه نمود که عملکرد اسانس، بیشتر تحت تأثیر عملکرد محصول قرار دارد و تأثیرپذیری آن از درصد اسانس کمتر بوده است. به عبارت دیگر، سهم درصد اسانس در ارتقاء عملکرد اسانس در واحد سطح کمتر از عملکرد بیولوژیکی محصول بود. نتایج این تحقیق گویای این مطلب است که که کاربرد کود شیمیایی نیتروژن، عملکرد اسانس گیاه دارویی ریحان را بیشتر از طریق تغییر عملکرد محصول تحت تأثیر قرار می‌دهد.

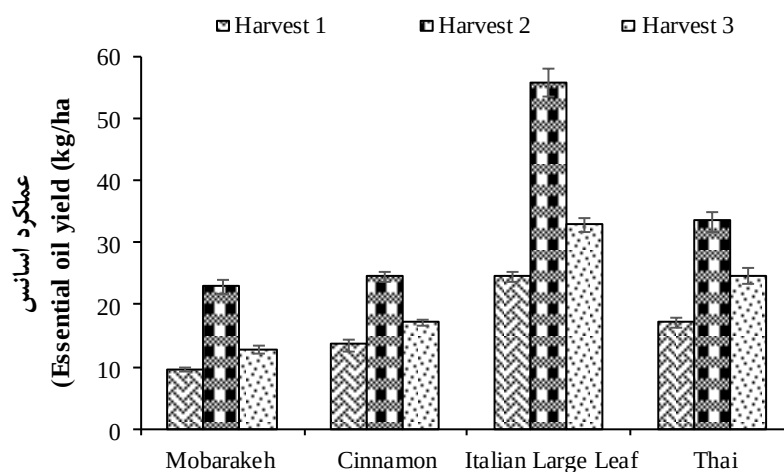
رنگیزه‌های فتوسنتزی

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ساده رقم، کود و برداشت و همچنین برهم‌کنش رقم × کود بر محتوای کلروفیل a معنی‌دار بود (جدول ۳). در رقم Cinnamon با کاربرد 200 kg ha^{-1} کود در هکتار اوره بیشترین میزان کلروفیل a ($1.09 \text{ میلی گرم بر گرم وزن تر}$) به‌دست آمد (شکل ۶). در بین برداشت‌های مورد ارزیابی، برداشت اول دارای بیشترین مقدار کلروفیل a ($0.90 \text{ میلی گرم بر گرم وزن تر}$) بود (شکل ۷).

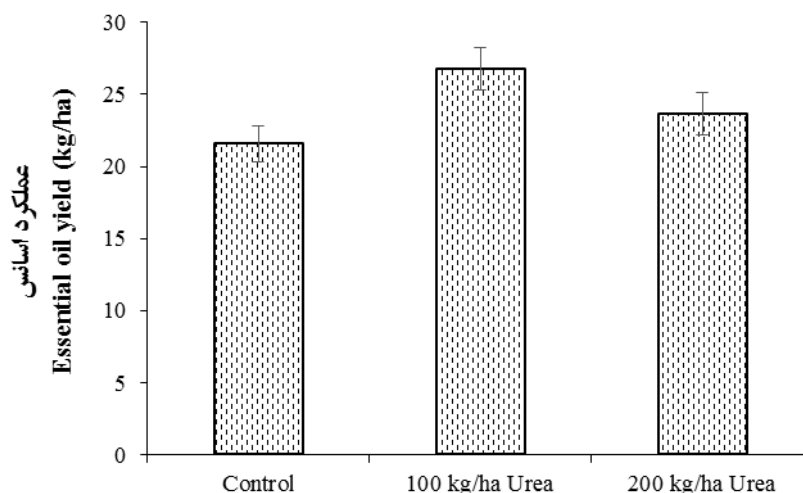
عملکرد اسانس

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۳، عملکرد اسانس ریحان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر رقم، کود، برداشت و برهم‌کنش رقم × برداشت قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین برهم‌کنش رقم × برداشت نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس ($55/64 \text{ کیلوگرم در هکتار}$) به رقم Italian Large Leaf در برداشت دوم اختصاص یافت (شکل ۴). در بین تیمارهای کودی، تیمارهای کاربرد $100 \text{ کیلوگرم در هکتار اوره}$ و شاهد (عدم کوددهی) به‌ترتیب دارای بیشترین ($26/79 \text{ کیلوگرم در هکتار}$) و کمترین عملکرد اسانس ($21/58 \text{ کیلوگرم در هکتار}$) بودند (شکل ۵). در تحقیقی اثر مقادیر صفر، 50 و $100 \text{ کیلوگرم نیتروژن در هکتار}$ بر عملکرد اسانس ریحان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با وجود اثر منفی کود نیتروژن بر میزان اسانس گیاه، بیشترین عملکرد اسانس ریحان با مصرف $100 \text{ کیلوگرم در هکتار نیتروژن}$ به‌دست آمد (۶). دلیل اینکه بیشترین عملکرد اسانس به رقم Italian Large Leaf در برداشت دوم اختصاص یافت را می‌توان این‌گونه توجیه نمود که این رقم نسبت به سایر ارقام مورد ارزیابی در این پژوهش، از عملکرد بیولوژیکی بیشتری برخوردار بود (شکل ۳) و از طرفی برداشت دوم نیز عملکرد بیولوژیکی (شکل ۳) و درصد اسانس بیشتری نسبت به سایر برداشت‌ها داشت (داده‌ها منتشر نشده). در تحقیقی گزارش گردید که از بین سه برداشت مربوط به گیاه ریحان، بیشترین عملکرد اسانس از برداشت دوم و کمترین مقدار آن از برداشت اول به‌دست آمد (۹). در تحقیق حاضر با کاربرد کود شیمیایی اوره به میزان $100 \text{ کیلوگرم در هکتار}$ ، بیشترین عملکرد اسانس



شکل ۴- اثر متقابل رقم × برداشت‌های مختلف بر عملکرد اسانس ارقام ریحان

Figure 4- Interaction effect of cultivar × different harvests on essential oil yield of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)



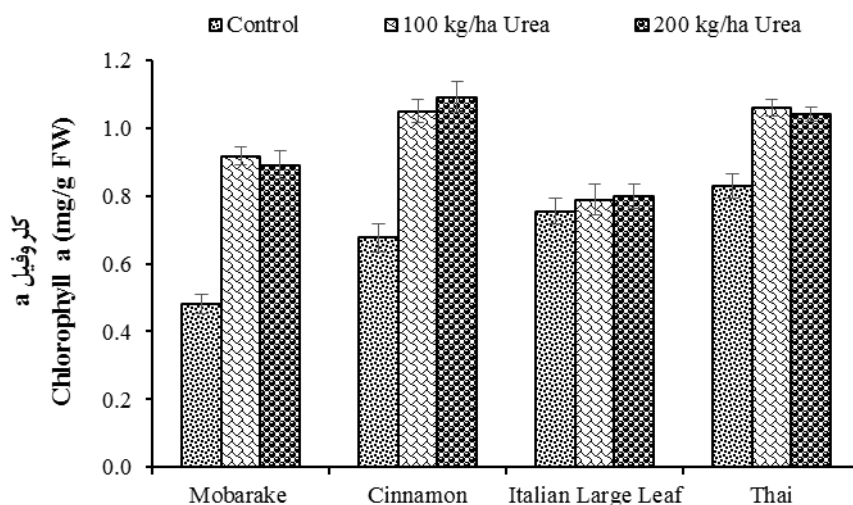
شکل ۵- اثر سطوح مختلف کود نیتروژن بر عملکرد اسانس ریحان

Figure 5- The effect of different levels of nitrogen fertilizer on essential oil yield of sweet basil (DMRT, $p \leq 0.05$)

بین تیمارهای کودی نیز بیشترین محتوای کلروفیل b (۰/۳۳) میلی گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار آورده به دست آمد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص نمود که در بین برداشت‌های مختلف، برداشت اول دارای بیشترین مقدار کلروفیل b (۰/۳۲) میلی گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۴).

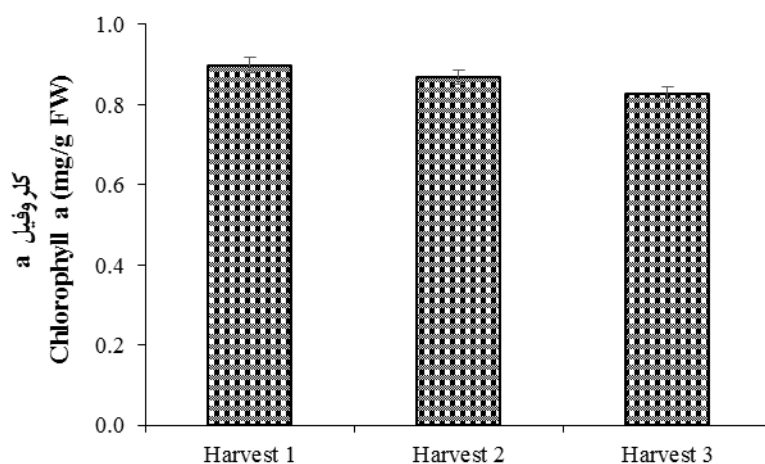
کلروفیل b

بین تیمارهای رقم، کود و برداشت از لحاظ کلروفیل b اختلاف معنی‌داری وجود داشت، اما برهمکنش تیمارها بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۳). در بین ارقام مختلف ریحان، ارقام Sweet Thai و Cinnamon به ترتیب با میانگین‌های ۰/۳۴ و ۰/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر، دارای بیشترین مقادیر کلروفیل b بودند (جدول ۴). در



شکل ۶- اثر متقابل رقم × کود نیتروژن بر محتوای کلروفیل a ارقام ریحان

Figure 6- Interaction effect of cultivar × nitrogen fertilizer on chlorophyll a content in sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)



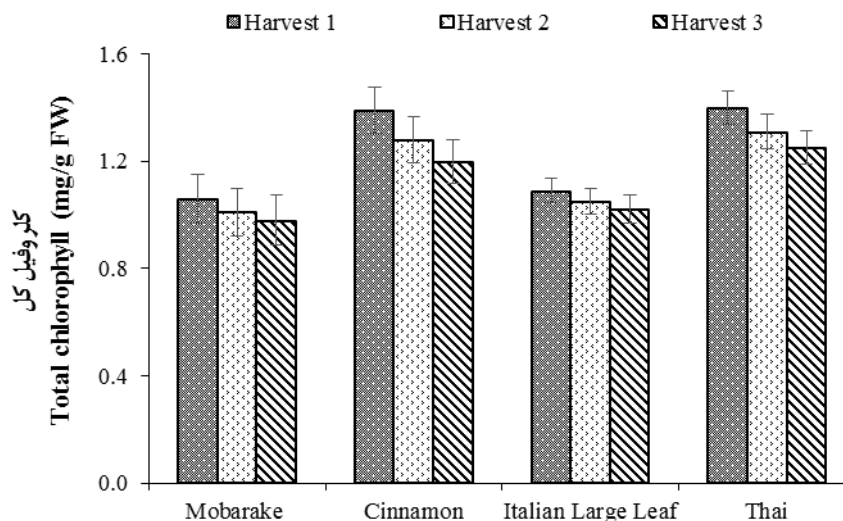
شکل ۷- اثر برداشت‌های مختلف بر محتوای کلروفیل a ارقام ریحان

Figure 7- The effect of different harvests on chlorophyll a content of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)

رقم Sweet Thai در برداشت اول دارای بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود (شکل ۸). در بین تیمارهای کودی، کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۲۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) را به خود اختصاص داد، با این وجود این تیمار با کاربرد ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۹).

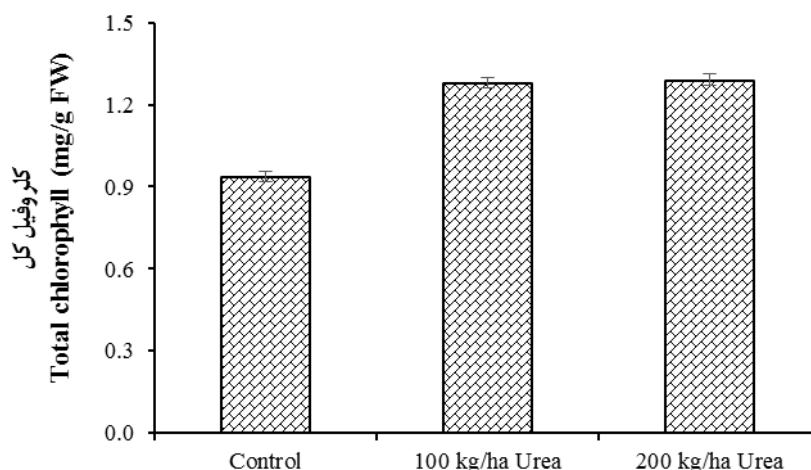
کلروفیل کل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳)، بین تیمارهای رقم، کود و برداشت از نظر کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری وجود داشت، برهم‌کنش رقم × برداشت نیز بر این صفت معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین مربوط به برهم‌کنش رقم × برداشت نشان داد که



شکل ۸- اثر متقابل رقم × برداشت‌های مختلف بر محتوای کلروفیل کل ارقام ریحان

Figure 8- Interaction effect of cultivar × different harvests on total chlorophyll content of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۹- اثر سطوح مختلف کود نیتروژن بر محتوای کلروفیل کل ارقام ریحان

Figure 9- The effect of different levels of nitrogen fertilizer on total chlorophyll content of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)

کاروتنوئید

میزان کاروتنوئید به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای رقم، کود و برداشت قرار گرفت، اما برهم‌کنش تیمارها بر این صفت معنی‌دار نگردید (جدول ۳). در بین ارقام مختلف ریحان، رقم Sweet Thai با میانگین ۰/۳۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر دارای بیشترین مقدار کاروتنوئید بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین مربوط به تیمارهای کودی نیز نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید (۰/۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) با کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره به‌دست آمد (جدول ۴). در بین برداشت‌های مورد ارزیابی، برداشت سوم دارای بیشترین

مقدار کاروتنوئید (۰/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (جدول ۴).

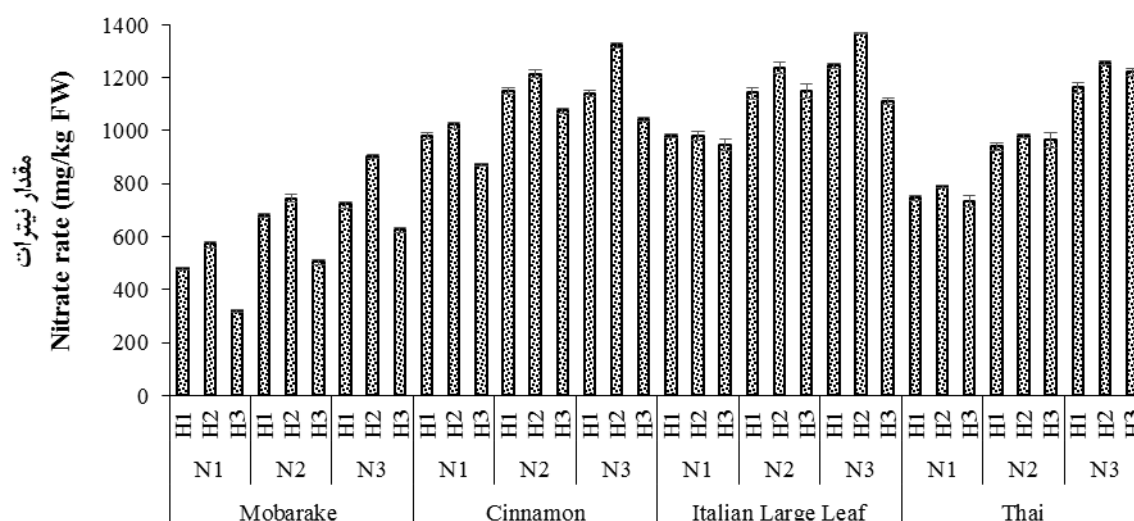
طبق نتایج این پژوهش، کاربرد کود نیتروژن اثر مثبت و معنی‌داری بر رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت. در پژوهشی اثر نیتروژن در دسترس گیاه، بر تشکیل کلروپلاست طی رشد برگ و همچنین در افزایش محتوای کلروفیل برگ مثبت و معنی‌دار گزارش گردید (۲۸). محتوای کلروفیل برگ از عوامل کلیدی در تعیین میزان و سرعت فتوسنتز و تولید ماده خشک است و اثر کود نیتروژن بر آن افزایشی می‌باشد (۲۶). در تمامی ارقام مورد ارزیابی، محتوای کلروفیل برگ در هر برداشت کمتر از برداشت قبل از آن بود، به‌طوری که محتوای

کلروفیل در برداشت سوم به کمترین مقدار رسید که به نظر می‌رسد عدم مصرف کود شیمیایی در برداشت سوم یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش میزان کلروفیل در این برداشت باشد، چون آخرین کاربرد کود اوره تقسیط شده در تیمارهای کودی پس از برداشت اول بود. از دیگر دلایل کاهش کلروفیل برگ در برداشت‌های دوم و سوم می‌توان به پر برگی گیاه اشاره نمود (۱۱). در تحقیقی گزارش گردید که با افزایش تعداد برگ به نوعی توزیع پیش ماده‌های لازم جهت بیوسنتز کلروفیل در کلروپلاست برگ‌ها کاهش یافته و در نهایت به کاهش محتوای کلروفیل برگ‌ها منجر می‌گردد (۲۰). با توجه به اینکه عمده ترکیبات رنگدانه‌های فتوسنتزی ساختار نیتروژنی داشته و نیتروژن از مهم‌ترین عناصر تشکیل دهنده کلروفیل، پروتوپلاسم، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و بسیاری از آنزیم‌های گیاهی است، از این رو کاربرد کودهای نیتروژنی توانسته تا حد زیادی مقدار کلروفیل را در گیاه ریحان افزایش دهد. به عقیده برخی محققان، همبستگی بالایی بین کلروفیل برگ و غلظت نیتروژن برگ وجود دارد (۱۰). نتایج تحقیقی نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b در گیاه ریحان به تیمارهای کود شیمیایی نیتروژن و همچنین تلفیق کود زیستی نیتروکسین به همراه ۵۰ درصد کود شیمیایی اختصاص یافت (۱۱). در بین برداشت‌های مختلف ریحان، بیشترین میزان کاروتنوئید در برداشت سوم مشاهده گردید (جدول ۴) که این روند برخلاف محتوای کلروفیل در برداشت‌های مورد ارزیابی بود (شکل ۷ و ۸) که با نتایج پژوهش‌های پیشین همسو می‌باشد (۱۱).

میزان نیترات گیاه

مقدار نیترات موجود در ریحان به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای رقم، کود و برداشت قرار گرفت، همچنین تمامی برهم‌کنش‌های رقم × کود، رقم × برداشت، کود × برداشت و رقم × کود × برداشت بر میزان نیترات گیاه معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین مربوط به برهم‌کنش رقم × کود × برداشت نشان داد که رقم Italian Large Leaf به‌همراه کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره در برداشت دوم دارای بیشترین میزان نیترات (۱۳۶۶/۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر) بود (شکل ۱۰). تفاوت معنی‌داری که بین ارقام مختلف ریحان از لحاظ میزان تجمع نیترات وجود دارد، نشان‌دهنده اثر عوامل ژنتیکی بر ظرفیت تجمع نیترات در گیاه می‌باشد (۲۷). به نظر می‌رسد علت پایین بودن نیترات در برداشت اول، به دلیل نور کافی و مساعد بودن شرایط آب و هوایی در این مرحله از برداشت ریحان باشد. با توجه به اینکه در برداشت اول و دوم کود نیتروژن مصرف گردید و از لحاظ مصرف کود نیتروژن شرایط هر دو برداشت

یکسان بود، دلیل افزایش نیترات در برداشت دوم را می‌توان این‌گونه توجیه کرد که در برداشت دوم، به دلیل افزایش تعداد شاخه‌های جانبی و ارتفاع بوته‌ها، فضای بین بوته‌ها کمتر شده که این مسئله باعث عدم دسترسی به نور کافی و تجمع نیترات بیشتر در گیاهان شده است. از طرفی افزایش دمای محیط در برداشت دوم نسبت به برداشت اول نیز یکی دیگر از عوامل تأثیرگذار در افزایش تجمع نیترات در گیاه بود (۳۱). عوامل محیطی متعددی بر غلظت نیترات گیاه از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های احیاءکننده نیترات اثر می‌گذارند. عموماً نور کم، دمای زیاد و تنش رطوبتی منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های احیاءکننده نیترات و افزایش تجمع نیترات در گیاه می‌شوند (۲۹). از مهم‌ترین دلایل پایین بودن نیترات در برداشت سوم، می‌توان به عدم مصرف کود نیتروژن و همچنین کاهش دما در این مرحله از برداشت ریحان اشاره کرد. غلظت نیترات در تمامی ارقام ریحان در تیمار ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار اوره به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای کودی بود (شکل ۱۰). هنگامی که گیاه در شرایط غیرعادی از جمله مصرف بیش از حد کود نیتروژن رشد می‌نماید، تولید پروتئین کاهش یافته و نیتروژن به شکل غیرپروتئینی در گیاه تجمع می‌یابد. مصرف بیش از حد کودهای نیتروژنی باعث افزایش غلظت نیترات در اندام‌های قابل مصرف سبزی‌ها می‌شود (۳). نیترات یکی از شکل‌های غیرپروتئینی است که مصرف بیش از حد آن در جیره غذایی باعث ایجاد سمیت می‌شود. شدت نور، در دسترس بودن رطوبت، تفاوت‌های ژنتیکی بین گیاهان (گونه‌ها و ارقام)، کاربرد سموم شیمیایی به‌خصوص علف‌کش‌ها، میزان در دسترس بودن نیترات در محیط ریشه و میزان تأمین عناصر غذایی دیگر شامل فسفر، گوگرد، پتاسیم، آهن، مولیبدن، کلسیم، منگنز و بُر، از عوامل متعدد مؤثر در تجمع نیترات گزارش شده است (۳۲). در آزمایشی میزان نیترات تجمع یافته در اندام‌های مختلف گیاه ریحان مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد در تیمار شاهد (عدم مصرف کود اوره) میزان تجمع نیترات در کلیه اندام‌های نمونه‌برداری شده زیر حد مجاز بود، اما با کاربرد سطوح مختلف کود اوره میزان تجمع نیترات در پهنک برگ و ساقه ریحان از حد مجاز فراتر رفت (۱۷). در تحقیقی گزارش گردید که ارقام مختلف ریحان از لحاظ میزان نیترات با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند و از بین سه برداشت مورد ارزیابی، بیشترین تجمع نیترات متعلق به برداشت دوم بود که با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (۲۱). در آزمایشی دیگر اعلام گردید که در بین مقادیر مختلف کود نیتروژن (۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار)، بیشترین میزان غلظت نیترات در گیاه ریحان به کاربرد ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن مربوط بود (۴).



شکل ۱۰- اثر متقابل رقم × کود نیتروژن در برداشت‌های مختلف بر میزان نیترات ارقام ریحان

Figure 10- Interaction effect of cultivar × nitrogen fertilizer in different harvest on nitrate rate of sweet basil cultivars (DMRT, $p \leq 0.05$)

N1, N2, N3: Control (0 kg ha^{-1} urea), 100 kg ha^{-1} urea, and 200 kg ha^{-1} urea, respectively and H1: first harvest, H2: second harvest and H3: third harvest

نتیجه‌گیری

درصد برگ، تمامی پارامترهای مورد بررسی در این مطالعه در برداشت اول کمتر از سایر برداشت‌ها بود. علی‌رغم اینکه مصرف کود اوره به‌طور معنی‌داری اکثر پارامترهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مورد ارزیابی در این تحقیق را بهبود بخشید، با این وجود تفاوت معنی‌داری بین کاربرد 100 و 200 کیلوگرم در هکتار اوره وجود نداشت. بنابراین، رقم Italian Large Leaf به‌همراه کاربرد 100 کیلوگرم در هکتار کود اوره در راستای کاهش آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف زیاد کود نیتروژن و همچنین دستیابی به رشد و عملکرد کمی و کیفی قابل قبول در شرایط آب و هوایی مشابه خرم‌آباد توصیه می‌گردد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین عملکرد خشک ریحان به رقم Italian Large Leaf با کاربرد 200 کیلوگرم در هکتار کود اوره در برداشت دوم آزمایش اختصاص داشت، که اختلاف معنی‌داری با رقم Italian Large Leaf با کاربرد 100 کیلوگرم در هکتار کود اوره در برداشت دوم نداشت. در بین ارقام مورد ارزیابی، رقم Mobarakeh کمترین میزان تجمع نیترات را داشت. غلظت نیترات در تمامی ارقام ریحان در تیمار 200 کیلوگرم در هکتار اوره به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای کودی بود. مصرف مقادیر مختلف کود اوره سبب افزایش محتوای کلروفیل گیاه گردید. به‌جز محتوای کلروفیل (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) و

منابع

- 1- Abedi M.H., Seghatoleslami M.J., and Mousavi S.G.R. 2014. Effect of irrigation interval and nitrogen fertilizer on yield and yield components of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in Birjand region. *Agroecology Journal* 5(4): 342-349. (In Persian with English abstract)
- 2- Afzali S.F., and Elahi R. 2014. Measuring nitrate and nitrite concentrations in vegetables, fruits in Shiraz. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 18(3): 451-457.
- 3- Argyropoulou K., Salahas G., Hela D., and Papasavvas A. 2015. Impact of nitrogen deficiency on biomass production, Morphological and biochemical characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants, cultivated aeroponically. *International Scientific Publications* 3: 32-42.
- 4- Biesiada A., and Kus A. 2010. The effect of nitrogen fertilization and irrigation on yielding and nutritional status of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum* 9: 3-12.
- 5- Chezgi M., Chalavi V., and Akbarpour V. 2017. The effect of organic and chemical nitrogen fertilizers on the yield and qualitative characteristics of two basil cultivars. *Journal of Crop Production and Processing* 8(1): 29-44. (In

- Persian with English abstract)
- 6- Dadvand Sarab M., Naghdi-Badi H., Nasri M., Makkizadeh M., and Omidi H. 2008. Changes in essential oil content and yield of basil in response to different levels of nitrogen and plant density. *Journal of Medicinal Plants* 3(27): 60-70. (In Persian with English abstract)
 - 7- Dordas C.A., and Sioulas C. 2007. Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rain fed conditions. *Industrial Crops and Products* 27: 75-85.
 - 8- El Gendy A.G., El Gohary A.E., Omer E.A., Hendawy S.F., and Hussein M.S. 2015. Effect of nitrogen and potassium fertilizer on herbage and oil yield of chervil plant (*Anthriscus cerefolium* L.). *Industrial Crops and Products* 69: 167-174.
 - 9- Jahan M., Amiri M.B., Dehghanipour F., and Tahami M.K. 2013. The effects of biofertilizers and winter cover crops on essential oil production and some agroecological characteristics of Basil (*Ocimum basilicum* L.) in an organic farming system. *Iranian Journal of Field Crops Research* 10(4): 751-763. (In Persian with English abstract)
 - 10- Karami S., Hadi H., Tajbakhsh-Shishavan M., and Modarres-Sanavy A.M. 2017. Effect of different levels of nitrogen and zeolite on chlorophyll content, quantity and quality of amaranth forage under deficit irrigation stress. *Crops Improvement*, 20(1): 67-84. (In Persian with English abstract)
 - 11- Kordi S. 2017. Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of forage maize (*Zea mays* L.) and sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under nitrogen fertilizers (biological, chemical and integrated) in additive intercropping. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. (In Persian with English abstract)
 - 12- Kordi S., Shafagh-Kolvanagh J., Zehtab-Salmasi S., and Daneshvar M. 2018. Response of yield and some physiological traits of sweet basil affected by different nitrogen sources under intercropping with corn. *Iranian Journal of Field Crop Science* 49(2): 185-198. (In Persian with English abstract)
 - 13- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
 - 14- Mahfouz S.A., and Sharaf-Eldin M.A. 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics* 21: 361-366.
 - 15- Marotti M., Piccaglia R., and Giovanelli E. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 3926-3929.
 - 16- Marschner H. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants. 3rd Ed. Academic Press, London.
 - 17- Moafpourian Gh., and Tadayon M.S. 2018. Effect of different amounts of urea fertilizer on yield and nitrate accumulation in edible parts of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Plant Ecophysiology*, 10(34): 206-217. (In Persian with English abstract)
 - 18- Motaghian A., Pirdashti H., Akbarpour V., Serajpour G., Yaghoobi-Khanghahi M., and Shariatnezhad S. 2014. Evaluation of yield Basil (*Ocimum basilicum* L.) and sesame (*Sesamum indicum* L.) in different intercropping combinations by competitive indices. *Agroecology Journal*, 5(3): 243-254. (In Persian with English abstract)
 - 19- Mumivand H., Nooshkam A., Moseni A., and Babalar M. 2013. Influence of nitrogen and calcium carbonate application rates on nitrate accumulation and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). *Electronic Journal of Crop Production*, 6(2): 109-124. (In Persian with English abstract)
 - 20- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25(2): 239-250.
 - 21- Nicoletto C., Santagata S., Bona S., and Sambo P. 2013. Influence of cut number on qualitative traits in different cultivars of sweet basil. *Industrial Crops and Products* 44: 465-472.
 - 22- Omidbaigi R. 2006. Production and Processing of Medicinal Plants. 4th Ed. Astan Ghods Razavi Press, Mashhad, Iran, 397 p. (In Persian)
 - 23- Pandey A.K., Singh P., and Tripathi N.N. 2014. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 4(9): 682-694.
 - 24- Rezaei-Moadab A., Nabavi-Kalat S.M., and Sadrabadi-Haghighi R. 2014. The effect of vermicompost and biological and chemical fertilizers on growth yield and essence of basil (*Ocimum basilicum* L.) in the Mashhad weather conditions. *Agroecology Journal* 5(4): 350-362. (In Persian with English abstract)
 - 25- Roy R.N., Finck A., Blair G.J., and Tandon H.L.S. 2006. Plant Nutrition for Food Security. A guide for integrated nutrient management. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 348 p.
 - 26- Salem M.A., Al-Zayaneh W., and Abdul-Jaleel C. 2010. Effects of compost interactions on the alterations in mineral biochemistry growth, tuber quality and production of *Solanum tubersum*. *Frontiers of Agricultural in China* 4(2): 170-174.
 - 27- Sareer O., Bernstein N., Ahmad S., and Umar S. 2016. Genetic, developmental and temporal variability in nitrate accumulation and nitrate reductase activity in medicinal herb *Andrographis paniculata*. *Pedosphere* 26(6): 839-847.
 - 28- Singh M., Khan M.M.A., and Naeem M. 2016. Effect of nitrogen on growth, nutrient assimilation, essential oil content, yield and quality attributes in *Zingiber officinale* Rosc. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 15: 171-178.
 - 29- Stepowska A.J., and Kowalczyk W. 2000. The effect of growing media on yield and nitrate accumulation in lettuce

- (*Lactuca sativa* var. capitata L.). Acta Horticulturae 548: 503-510.
- 30- Tahami-Zarandi S.M.K., Rezvani-Moghadam P., and Jahan M. 2014. Evaluation the effects of organic, biological and chemical fertilizers on morphological traits, yield and yield components of basil (*Ocimum basilicum* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 12(4): 543-553. (In Persian with English abstract)
- 31- Umar A.S., and Iqbal M. 2007. Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications. A review. Agronomy for Sustainable Development 27: 45-57.
- 32- Waezzadeh M., Nadery M.R., and Golabady M. 2010. Effect of different nitrogen fertilizer levels on yield and nitrate accumulation rate in tuber of two potato varieties in Isfahan region (Faridan). M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Isfahan (Khorasgan). (In Persian with English abstract)



Effect of Different Levels of Nitrogen on Yield, Nitrate Content, Essential Oil Yield and some Physiological Traits in Four Cultivars of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.)

F. Moayedi^{1*} - S. Kordi² - A.A. Mehrabi³ - S. Dastborhan⁴

Received: 10-11-2019

Accepted: 30-06-2020

Introduction: Sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) is one of the oldest spices belongs to the Lamiaceae family. It is a herbaceous annual plant, which is native to subtropical regions of Asia, Africa, America. Basil is an important economic crop and widely used in the culinary arts, food processing and pharmaceutical industries. Nitrogen is one of the most important nutrients for plant production that plays a major role in photosynthetic activities and crop yield capacity and its availability affects plants growth and biochemical processes. Nitrogen deficiency is often a limiting factor in vegetable production such as sweet basil. Nitrogen usage significantly can be increased the herb yield of basil grown in different environmental conditions. The nutritional and environmental factors are the most important factors for growth of the medicinal plants. In the present research, changes in yield, nitrate content, essential oil yield and some physiological traits have been investigated in four cultivars of sweet basil under different levels of nitrogen.

Materials and Methods: A field experiment was carried out in the Agricultural Research Station of Khorramabad during 2016 growing season. The experimental factors were arranged as a factorial-split-plot in time experiment based on randomized complete blocks design with three replications. Experimental factors were cultivars of sweet basil (*O.basilicum* var Italian Large Leaf, *O. basilicum* var Mobarakeh, *O. basilicum* var Sweet Thai and *O. basilicum* var Cinnamon) and nitrogen fertilizer (0, 100 and 200 kg ha⁻¹ urea) assigned to the main plots as factorial and different cuttings (three harvests from each plot) considered as sub-plots. The half amount of nitrogen (as urea; 46% N) was distributed in experimental plots before planting the seeds and the rest used after the first harvest. Seeds of sweet basil were planted at May, 25th 2016 as five rows with 2m length and each main plot area was 5 m². The space between rows was 50 cm. All plots were irrigated immediately after sowing. Subsequent irrigations were carried out every four days. The control of weeds conducted manually during the experiment time. The sweet basil plants were harvested three times in early flowering stage in July 12, August 15 and September 25. Samples of 1 m length were taken from the center of two rows located in the middle of each plot. Plants were cut from above ground and transferred to the lab for measuring total dry yield. The measured traits in this study included branches per plant, inflorescences per plant, plant height, leaf percentage, total dry yield, essential oil yield, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid and nitrate content. SAS (version 9.1) and MSTAT-C statistical software were used to conduct analysis of variance (ANOVA) and comparison of means, respectively. The Duncan's multiple range test, at 5% probability level, was used to rank the differences among means.

Results and Discussion: The results indicated that the application of nitrogen fertilizer significantly improved all the studied traits. The highest and the lowest essential oil yield belonged to 100 kg ha⁻¹ urea and control, respectively. Nitrogen fertilizer by providing the nitrogen needed for the basil plant during the growing season provides a favorable environment for the production of further biomass. Total dry weight of the all basil cultivars increased with application of nitrogen fertilizer in all harvests. The highest total dry weight and nitrate concentrations were achieved by Italian largel cultivar with application of 200 kg ha⁻¹ urea in the second harvest. The increment in total dry weight of basil by application of nitrogen fertilizer could be attributed to the increment in chlorophyll content and better growth of plants and subsequently the better canopy development which ultimately leads to the better usage of solar irradiance, higher photosynthesis and finally higher dry weight in basil plants. Application of nitrogen chemical fertilizer could increase essential oil yield of sweet basil, mainly due to the increasing of total dry weight.

1- Instructor, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Khorramabad Branch, Iran

(*- Corresponding Author Email: faraj.moayedi1362@gmail.com)

2- Ph.D. in Crop Ecology, Young Researchers and Elite Club, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran

3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Ilam, Iran

4- Ph.D. in Crop Physiology, Young Researchers and Elite Club, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

Among basil cultivars, Italian large leaf cultivar had the highest leaf percentage and essential oil yield compared to the other cultivars. The lowest number of branches per plant, number of inflorescences per plant, leaf percentage, essential oil yield and total chlorophyll belonged to Mobarakeh cultivar. All the evaluated parameters were lower than the first harvest except leaf percentage and chlorophyll content.

Conclusion: According to the results, application of nitrogen fertilizer had a positive effect on growth, and consequently led to increase the plant vegetative yield. Due to the fact that in terms of more of the studied traits there was no significant difference between application of 100 and 200 kg ha⁻¹ urea fertilizer and also reduce the consumption of chemical fertilizers generating pollution, Italian large leaf cultivar and application of 100 kg ha⁻¹ urea are recommended to access an acceptable growth and quantitative and qualitative yield in sweet basil under the environmental conditions similar to Khorramabad.

Keywords: Dry weight, Essential oil, Photosynthetic pigments, Sweet basil, Urea



مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانهال‌های پسته گونه اهلی در تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه اینتگریمما به منظور دسترسی به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی

حسن فرهادی^۱ - محمد مهدی شریفانی^{۲*} - مهدی علیزاده^۳ - حسین حکم آبادی^۴ - ساسان علی نیائی فرد^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰

چکیده

پسته یکی از مهمترین محصولات باغی ایران است که بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک کشت می‌شود. به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک دانهال‌های پسته و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایش شامل ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندق و (دورگ‌های بین اینتگریمما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ‌های احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندق به عنوان والد مادری) و سه سطح خشکی شامل شاهد (ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند که ۸۴ روز روی دانهال‌های سه ماهه پسته اعمال شدند. نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر تعداد برگ، طول ساقه، طول ریشه، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پرولین برگ و ریشه داشت. با افزایش سطوح خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین در گیاهان مورد مطالعه نسبت به شاهد کاهش یافت. در بین دانهال‌ها، در اکثر صفات به ترتیب ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما کمتر و ژنوتیپ‌های فندق و فندق × اینتگریمما بیشتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفتند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بتوان از دورگه‌های پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما به عنوان ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح ارقام در مناطق خشک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

مقدمه

نیز به عنوان یکی از بحرانی‌ترین کشورهای درگیر کمبود آب در آینده نام برده شده است (۳). بنابراین با توجه به گسترش روزافزون کم آبی و نیز پایین رفتن سطح آب زیرزمینی و کمبود بارش به ویژه در مناطق اصلی پسته کاری ایران، لزوم توجه به مسئله کم آبی و خسارت‌های فیزیولوژیکی ناشی از آن بیش از پیش بارزتر و مهم‌تر به نظر می‌رسد. تنش خشکی یکی از عمده‌ترین مشکلات محدود کننده رشد و عملکرد گیاهی بوده و زمانی رخ می‌دهد که میزان تعرق بیشتر از میزان جذب آب باشد. در این شرایط، تنش خشکی کلیه فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصول و بالاخره در تداوم تنش مرگ گیاه را به دنبال دارد (۳۸).

کشاورزی ایران با محصول پسته (*Pistacia vera* L.) در جهان شناخته شده و این محصول، جزو مهمترین بخش صادرات غیر نفتی می‌باشد. متوسط صادرات سالانه پسته کشور بالغ بر ۱۰۰ هزار تن

ایران با قرار گرفتن بین عرض‌های جغرافیایی ۲۵ تا ۳۷ درجه از خط استوا در نیمکره شمالی قرار گرفته است و جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود (۲۴). طبق یافته‌های سازمان ملل متحد در آینده‌ای نه چندان دور ۳۱ کشور جهان با بحران خشکسالی مواجه خواهند شد به طوری که تا سال ۲۰۳۰ به دلیل تغییرات جوی، ۱/۲ میلیارد نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از ایران

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(Email: mmsharif2@gmail.com) (* نویسنده مسئول)

۴- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان

۵- استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

گزارش شده است که درآمدی در حدود ۱۰۰ میلیارد دلار برای کشور به دنبال دارد (۲۷). به همین منظور تلاش برای بهبود وضعیت عملکرد می‌تواند از اهداف اولیه در صنعت تولید پسته کشور باشد؛ با توجه به مشکل کم آبی در ایران افزایش سطح زیر کشت به منظور افزایش تولید نمی‌تواند گزینه مناسبی باشد. سالانه تحقیقات زیادی به منظور بهبود عملکرد کمی و کیفی میوه پسته صورت می‌گیرد. یکی از گزینه‌های بهبود عملکرد کمی و کیفی محصول، انتخاب ژنوتیپ مناسب و سازگار با رقم، شرایط آب و هوایی و خاک منطقه است. انتخاب طبیعی در بین باغات قدیمی و سنتی، انجام گرده‌افشانی و تلاقی‌های کنترل شده و روش‌های به نژادی، زیست فناوری و اصلاح نوین از راه‌های اصلاح ارقام و ژنوتیپ است (۳۳). انتخاب ارقام مقاوم یکی از ساده‌ترین راه‌های ممکن و پیش رو می‌باشد که در همین راستا می‌توان بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مدنظر تلاقی‌هایی انجام داد. با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به عنوان یک محصول استراتژیک و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، تحقیقات به منظور یافتن ژنوتیپ‌های دورگه متحمل به خشکی ضروری می‌باشد. بنابراین به نژادی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی دارای اهمیت است. لازمه این فرآیند جستجو بین توده‌های طبیعی و گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم و استفاده از آنها در برنامه‌های به نژادی می‌باشد (۷).

در پژوهشی باقری (۱۰) روی دو رقم پسته بادامی و قزوینی با چهار سطح خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) نشان داد که در بین دو رقم، رقم بادامی ریز نسبت به رقم قزوینی از رشد بهتری در شرایط خشکی برخوردار بوده و ماده خشک بالاتری تولید نموده است. همچنین رقم بادامی ریز با توجه به تولید ماده خشک بیشتر، حفظ میزان کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ بالاتر نسبت به رقم قزوینی در شرایط تنش خشکی مقاوم‌تر است. در پژوهشی مشابه قاسمی (۱۴) اثر تنش خشکی را روی چهار رقم پسته مورد بررسی قرار داد و گزارش کرد که ارقام بادامی و بنه که به عنوان ارقام مقاوم به تنش خشکی شناخته شدند، دارای محتوی نسبی آب برگ بالاتری نسبت به ارقام حساس به خشکی قزوینی و سرخس می‌باشند. بر اساس یافته‌های تایز و زایگر (۳۵) گیاهانی که بتوانند در شرایط تنش میزان کلروفیل خود را در سطح بالایی حفظ کنند از کارایی فتوسنتزی بالاتری برخوردار خواهند بود و دلیل این مسئله این است که کلروفیل رنگیره اصلی جذب کننده نور می‌باشد و حضور آن برای راه اندازی فرآیندهای فتوشیمیایی ضروری است. بن حامد و همکاران (۱۲) نیز در پژوهشی سطوح مختلف تنش خشکی را بر روی بذور ژنوتیپ‌های آتلانتیکا، ورا و دانهال‌های حاصل از بذور تلاقی بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا اعمال نمودند و مشاهده کردند که بذور دورگه میزان مقاومت بیشتری نسبت به بذور آتلانتیکا و ورا داشتند. بر اساس گزارشات آدن (۳۶) گونه اینتگریمما از نظر شرایط آب و هوایی دامنه‌های خشک با

خاک‌های کم عمق را ترجیح می‌دهد و از نظر تحمل به خشکی متوسط است. در پژوهشی که اخیراً توسط ماریانا و همکاران (۲۶) در اسپانیا انجام شد تأثیر تنش خشکی بر پیوندک دو ساله رقم کرمان روی سه پایه تربیتوس، آتلانتیکا و یو سی بی-۱ که حاصل تلاقی بین گونه‌ای اینتگریمما (به عنوان والد پدری) و آتلانتیکا (به عنوان والد مادری) است مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ایشان نشان داد که بیشترین میزان رشد رویشی رقم کرمان در شرایط خشکی روی پایه یو سی بی-۱ بود. در پژوهشی دیگر گبجون و همکاران (۱۶) نشان دادند که گونه تربیتوس و دورگه حاصل از تلاقی آتلانتیکا × اهلی به طور چشم‌گیری حساسیت روزنه‌ای و قدرت زنده‌مانی در شرایط تنش خشکی را در پیوندک رقم کرمان بهبود بخشیدند و این در حالی بود که گونه آتلانتیکا با بیشترین کاهش سطح برگ، رشد و قدرت زنده مانی به عنوان حساس‌ترین پایه در این بین شناسایی گردید.

تحقیقات صورت گرفته تاکنون در راستای بررسی تنش خشکی دانهال‌ها و ژنوتیپ‌های پسته از طریق انتخاب بذور و یا گیاه مادری مستقیم بوده و تاکنون بین بذور حاصل از تلاقی‌های کنترل شده بوسیله دانه کرده گونه اینتگریمما با گونه اهلی پژوهشی به منظور گزینش ژنوتیپ متحمل به خشکی همزمان با بهبود رشد رویشی صورت نگرفته است. به طور کلی تلاقی‌های هدفمند در جهت افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهی مطمئن و دائمی برای به حداقل رساندن اثرات زیان‌بار تنش خشکی بر گیاهان به شمار رود. گونه ورا (*Pistacia vera* L.) که عمده‌ترین پایه مورد استفاده در کشور است گونه‌ای کند رشد و دیر بازده می‌باشد. در عوض پسته گونه اینتگریمما (*P. integerrima* S.) یکی از گونه‌های پر رشد، مقاوم به ورتیسیلیوم و بسیاری از خصوصیات خوب دیگر است.

بنابراین هدف از این پژوهش، مقایسه تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های مختلف پسته حاصل از گرده‌افشانی آزاد با دانه کرده گونه‌های ورا و تلاقی‌های کنترل شده با استفاده از دانه کرده اینتگریمما به منظور یافتن متحمل‌ترین ژنوتیپ نسبت به خشکی با بررسی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: گرده‌افشانی کنترل شده و تولید بذور دورگه

به منظور تولید بذور دورگه، تلاقی کنترل شده در مؤسسه تحقیقات پسته استان قدس رضوی (شهرستان بردسکن - شهر انابد) واقع در ۲۹۷ کیلومتری شهر مشهد در سال باغی ۹۷-۱۳۹۶ بر روی درختان ۱۴ ساله ارقام احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندق انجام شد. درختان پسته مورد آزمایش در فضای باغ به

گندم و گرده اینتگریمما (نسبت ۱:۱ در هر مرحله) در چهار مرحله با غلظت‌های مختلف به داخل کیسه‌های عایق تزریق و عمل گرده افشانی صورت گرفت (جدول ۱). این اقدام برای هر خوشه چهار مرتبه تکرار گردید. در زمان بستن کیسه‌های عایق بندی، با توجه به رشد طولی جوانه انتهایی، حدوداً ۱۵ سانتی‌متر از فضای انتهایی کیسه خالی در نظر گرفته شد. پس از گرده‌افشانی هنگامی که کلاله گل‌ها، قهوه‌ای رنگ شد و میوه‌ها به صورت دانه ارزنی رسیدند کیسه‌های ململ از روی شاخه‌ها برداشته و با کیسه‌های توری بزرگ تعویض شدند تا از میوه‌های تشکیل شده مراقبت‌های لازم در خصوص کنترل آفات و سایر موارد صورت پذیرد. در اواخر تابستان برداشت بذرها دورگه انجام شد و پس از خشک نمودن، در داخل یخچال با دمای ۴ + درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

مختصات جغرافیایی طول ۵۷/۸۰، عرض ۳۵/۲۴ و ارتفاع ۸۷۵/۰۰ متر از سطح دریا قرار داشتند. هر تکرار یک درخت داشت و از هر درخت هفت شاخه که حداقل دارای سه تا چهار جوانه گل می‌باشد، انتخاب شد و چهار شاخه از آن‌ها برای گرده‌افشانی کنترل شده، دو شاخه جهت گرده افشانی آزاد و یک شاخه به منظور کنترل منفی در نظر گرفته شد (شکل ۱). قبل از باز شدن کامل خوشه‌های گل، روی شاخه‌ها با الکل ۷۰ درصد اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. به منظور اطمینان از گرده‌افشانی کنترل شده، در مرحله تورم جوانه، شاخه‌ها به وسیله کیسه‌های دو لایه ململ به ابعاد ۳۰×۴۵ سانتی‌متر ایزوله گردید. برای انتخاب والد نر اینتگریمما در منطقه ارزوئیه استان کرمان از درخت شماره ۱ دانه گرده جمع‌آوری شد و تا زمان آماده بودن والد‌های ماده، گرده‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از سرنگ ترکیب آرد

جدول ۱- تیمارهای آرد و گرده مورد استفاده در گرده‌افشانی کنترل شده درختان پسته

Table 1- Flour and pollen treatments used in controlled pollination of pistachio trees

مراحل گرده‌افشانی	تاریخ گرده‌افشانی	میزان آرد و گرده اینتگریمما
Pollination steps	Pollination date	Integerrima flour and pollen levels
مرحله اول	۵ فروردین ماه	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۲۵ گرم)
First stage	25 March	0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)
مرحله دوم	۷ فروردین ماه	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۳۷۵ گرم)
Second stage	27 March	0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله سوم	۱۰ فروردین ماه	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۳۷۵ گرم)
Third stage	30 March	0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله چهارم	۱۴ فروردین ماه	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۲۵ گرم)
Fourth stage	3 April	0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)



شکل ۱- نحوه عایق‌سازی (a)، کنترل منفی (b) و تعویض کیسه‌های ململ با کیسه‌های توری (c) در شاخه‌های پسته

Figure 1- Insulation (a), negative control (b) and replacement of jaconet bags to lace bags (c) in the pistachio branches.

طبیعی گرگان روی ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه، فندق و (دورگه‌های بین اینتگریمما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ‌های احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه و فندق به عنوان والد مادری) انجام شد. بذور حاصل از گرده‌افشانی آزاد و کنترل شده در ۱۷ فروردین ۱۳۹۸ در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر کشت شدند. بذرها قبل از کاشت ۲۴ ساعت در

مرحله دوم: آزمون مقاومت به خشکی دورگه‌های بدست آمده از مرحله اول

این پژوهش در سال باغی ۹۸-۱۳۹۷ به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

و ریشه و بخش هوایی با استفاده از یک تیغ از محل طوقه از هم جدا شدند. در نهایت طول ریشه و ساقه گیاهان در این آزمایش با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ از روش بارس و ویتزلی (۱۱) که شامل اندازه‌گیری وزن تر (FW)، وزن آماس (TW) و سپس وزن خشک (DW) و قرار دادن آن‌ها در رابطه زیر است، استفاده گردید. ابتدا سه برگ کاملاً پهن و گسترده را از نمونه‌ها جدا نموده و بلافاصله وزن‌تر اندازه‌گیری شد. سپس این برگ‌ها برای اندازه‌گیری وزن آماس، به مدت ۱۲ ساعت در حالت کاملاً غوطه‌ور در آب مقطر قرار گرفته و دوباره توزین شدند. در نهایت برای به دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد آون قرار داده شدند. اندازه‌گیری‌ها در هر تکرار و هر تیمار روی سه گیاه انجام و متوسط آنها ثبت گردید.

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

برای بررسی میزان نشت الکترولیت و میزان آسیب به غشاء در اثر تنش خشکی، در پایان آزمایش اقدام به تهیه نمونه‌های برگ‌ای از گیاهان مورد بررسی شد. پس از پنج بار شستوی برگ‌ها با آب دو بار تقطیر، ۴ دیسک ۶ میلی‌متر مربعی از برگ‌های تازه تهیه شده و به لوله‌های پروپیلنی دارای ۱۵ میلی لیتر آب دو بار تقطیر انتقال داده شد. لوله‌های دارای نمونه برگ‌ی به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با EC متر اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی اولیه). بعد از اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اولیه، نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و با فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو شدند تا تمام محتویات سلول خارج شد. سپس دوباره میزان هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی ثانویه) و درصد نشت‌یونی از رابطه زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$= \frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} \times 100$$

درصد نشت یونی

اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a، b و کل در پایان دوره تنش صورت گرفت. در پایان آزمایش به منظور تعیین میزان کلروفیل برگ، ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی له و به وسیله ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب نوری رو شناورها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) قرائت شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل و کارتنوئید (میلی گرم در هر گرم برگ تازه) از معادلات زیر استفاده شد (۲۰).

(۱)

$$a(mg/g) = (w \times 1000 / (v \times 645)) \times A_{663} - 2/69 (A_{1270})$$

آب مقطر استریل خیس شدند و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و به مدت ۳۰ دقیقه با قارچکش کاپتان ۲ در هزار به منظور ضدعفونی خیس‌انده و سپس جهت زدودن بقایای مواد شوینده از آن‌ها با آب مقطر سه مرتبه شستشو داده شدند. در هر یک از واحدهای آزمایشی (گلدان‌ها) سه عدد بذر کاشته شد و پس از سبز شدن و اطمینان از استقرار، تعداد گیاهان داخل گلدان به سطح نهایی یک عدد در هر گلدان کاهش یافت. هر تکرار شامل چهار واحد آزمایشی یا چهار گلدان و هر گلدان شامل یک گیاه بود. دمای متوسط روزانه گلخانه ۳۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد، دمای متوسط شبانه ۲۲-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 12 ± 45 درصد بود. بعد از ۳۵ روز از شروع کاشت به مدت ۶۵ روز، تغذیه دانه‌ها هر ۱۲ روز یک بار با کود بیومین (446-sp) با غلظت ۲ گرم در لیتر و در مجموع ۶۰۰ گرم و استفاده از کود هیومکس ۹۵ (HUMAX 95- WSG) با غلظت ۷ گرم در لیتر و در مجموع ۲۱۰۰ گرم انجام شد. پس از رشد و مراقبت های لازم از گیاهان، سطوح خشکی برای مدت ۸۴ روز (از ۲۳ تیر تا ۱۵ مهر ۱۳۹۸) روی دانه‌ها ۱۰۰ روزه اعمال شد. اعمال تیمار خشکی به روش وزنی صورت گرفت. جهت شناسایی ترکیب خاک، در ابتدا آزمایشات مقدماتی با استفاده از محاسبات تعیین میزان آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه صورت پذیرفت. برای تعیین تیمارهای مقادیر آب در هر گلدان، ابتدا مقداری خاک درون آون قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت مجدد وزن شده و میزان آب در خاک مشخص گردید. سپس خاک خشک را در گلدان ریخته و به آرامی و تا حد اشباع، آب به آن اضافه شد و تا روز بعد رها گردید (۳۴). پس از خارج شدن کامل آب ثقی، گلدان توزین شد و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند. بر اساس محاسبات یاد شده، وزن هر گلدان برای هر سه تیمار ۱- شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، ۲- تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۳- تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) محاسبه گردید. طبق محاسبه‌های انجام شده با توجه به اینکه ظرفیت زراعی در نمونه خاک ۱۹ درصد محاسبه شد، معیار آبیاری هر گلدان، وزن روزانه آن‌ها در ساعت ۱۰ صبح بود و آب لازم برای رسیدن به هر سطح اضافه شد. همچنین در این آزمایش برای تعیین وزن گیاه از گلدان‌های بدون گیاه هم استفاده شد تا برابر وزن گیاه به گلدان‌ها آب اضافه شود تا وزن گیاه در ظرفیت‌های زراعی مدنظر اختلالی ایجاد نکند.

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

برای سنجش طول ریشه و ساقه، ابتدا گیاهان مورد بررسی از درون گلدان‌ها خارج و ریشه‌ها به خوبی شست و شو گردیدند. سپس این گیاهان در بسته‌بندی‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیده

(۲)

$$b(\text{mg/g}) = w \times 1000 / (v \times 663) \times 8645 - 4/68 (A_{22/9})$$

(۳)

کلروفیل کل $b(\text{mg/g})$ کلروفیل a کلروفیل

(۴)

$$\text{کارتونوئید } (\text{mg/g}) = (1/98) (b \text{ کلروفیل}) - 85/02 (\text{کلروفیل } a)$$

$$[(1/1000) (A_{470}) - 1/8]$$

در اینجا A ، میزان جذب نوری در طول موج مورد نظر می‌باشد،
 V حجم عصاره کلروفیل می‌باشد (۱۰ میلی‌لیتر) و w وزن برگ
 مورد استفاده (۰/۵ گرم) می‌باشد.

برای استخراج و سنجش پروکلین ۰/۵ گرم برگ بالغ را با ۵ میلی
 لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده سپس محلول حاصل را
 در لوله فالکون ریخته و عمل استخراج دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر
 اتانول ۷۰ درصد تکرار گردید. محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه
 با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی فاز
 مایع از جامد، قسمت مایع برای استخراج پروکلین مورد استفاده قرار
 گرفت. برای تعیین غلظت پروکلین یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی فوق
 را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده و ۵ میلی‌لیتر معرف ناین
 هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک
 گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) و ۵ میلی‌لیتر اسید

استیک گلاسیال به آن اضافه کرده، سپس این محلول به مدت ۴۵
 دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خارج کردن نمونه‌ها از
 حمام آب گرم و خنک کردن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آن‌ها اضافه
 شد و با همزن مکانیکی مخلوط شدند تا پروکلین وارد فاز بنزن شود.
 نمونه‌ها ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شده، سپس میزان جذب نوری
 با اسپکترومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. استانداردهای
 پروکلین نیز با استفاده از ال‌پروکلین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵،
 ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد
 (۲۹).

تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS
 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و
 با آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel
 استفاده گردید.

نتایج و بحث

تعداد برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد
 صفت تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد
 (جدول ۲).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی
 Table 2- ANOVA for (mean of squares) studied morphological traits in some pistachio genotypes under drought stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد برگ Number of leaves	طول ساقه Stem length	طول ریشه Root length	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	نشت الکترولیت Electrolyte leakage
ژنوتیپ Genotype	9	406.25**	762.20**	2966.25**	289.25**	389.29**
خشکی Drought	2	2400.90**	388.12**	11418.71**	941.72**	3861.31**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	10.48**	41.16 ^{ns}	523.79**	1.13 ^{ns}	110.05**
خطا Error	30	2.78	26.95	40.07	23.34	7.02
ضرب تغییرات C.V (%)		6.76	6.85	7.78	7.25	6.19

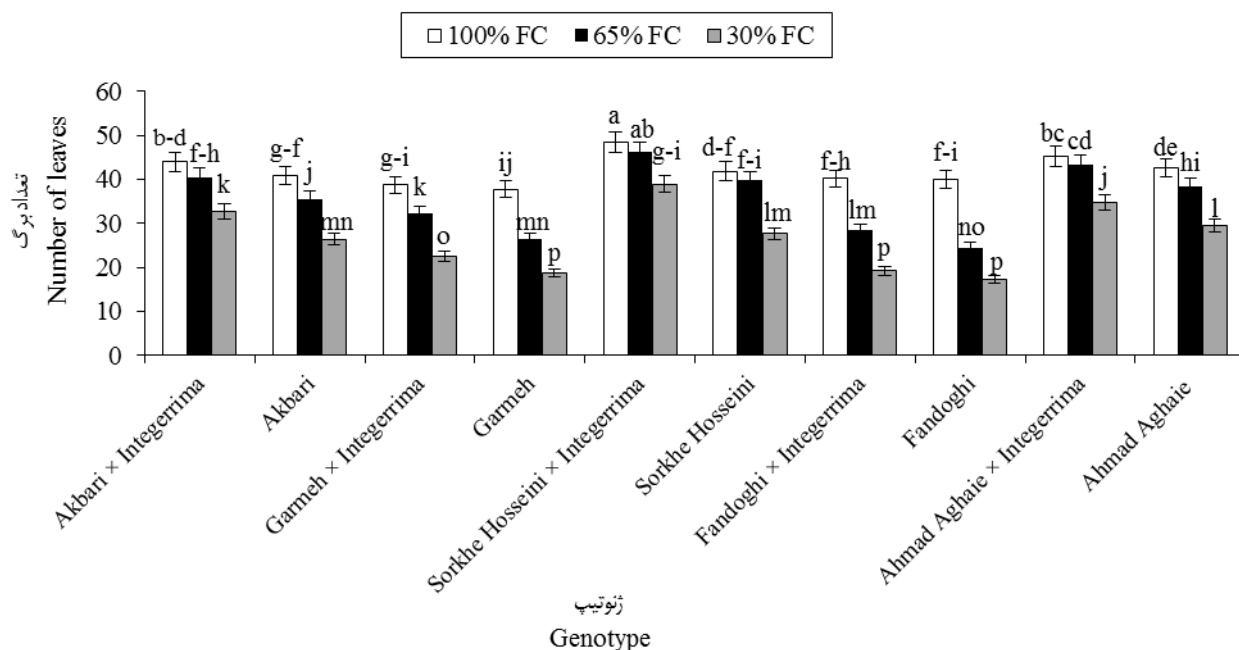
** و *؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.
 *، **؛ Significant at 1% and 5% of probability level and ^{ns} no significant, respectively

بیشترین تعداد برگ را در تمامی سطوح تنش نشان داد به طوری‌که
 در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد با میانگین ۱۹/۵۵ درصد
 کمترین کاهش از لحاظ این صفت را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان
 داد. برای این صفت در تنش شدید، نسبت به تیمار شاهد ژنوتیپ

بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی (شکل ۲) نشان داد که در
 بین دانهال‌ها، ۸۴ روز پس از شروع تیمارهای تنش، ژنوتیپ پر رشد
 سرخه‌سینی × اینتگریمما در تیمار شاهد با میانگین ۴۸/۵۴ عدد برگ،
 در تنش متوسط با میانگین ۴۶/۲۲ و در تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۸

دارد. البته بذور احمد آقایی، سرخه‌حسینی و اکبری که از گرده‌افشانی آزاد بدست آمده بودند نیز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در پایان تنش تحمل بیشتری نشان دادند که این عکس العمل به مقدار زیادی به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد که با نتایج فیهیمی خویردی (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که سبب بسته شدن روزنه‌ها در اثر سنتز اسید آبسزیک و در پی آن کاهش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی می‌شود که به صورت کاهش رشد گیاهان نمایان می‌شود و با تشدید تنش، مرگ گیاه را در پی دارد (۴). وقتی گیاهان در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند به دلیل کاهش پتانسیل آب بافت‌های مرستمی، فشار تورژانس مورد نیاز برای بزرگ شدن سلول کافی نبوده که این مسئله می‌تواند باعث کاهش انعطاف پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد شده و به کاهش رشد دیواره سلولی و بزرگ نشدن سلول‌ها منجر گردد که در نهایت باعث کاهش تعداد برگ می‌شود (۲۱).

فندق با میانگین ۵۶/۵۶ درصد بیشترین کاهش را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. از نظر تعداد برگ، ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریمما، گرمه، فندق × اینتگریمما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در سطح آخر خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) به ترتیب ۲۳/۴۹، ۲۵/۶۱، ۳۱/۰۴، ۳۳/۹۶، ۳۵/۴۹، ۴۱/۹۵، ۵۰/۳۳، ۵۲/۲۸ درصد کاهش نشان دادند. با توجه به اینکه گونه اینتگریمما یک پایه پر رشد است بنابراین می‌توان رشد بیشتر ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری در ارتباط با این صفت را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی کوهبانی و کریمی (۲۳) روی پسته مطابقت داشت. محققان مذکور گزارش کردند که بذور دورگه بدست آمده از تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه آتلانتیکا نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در ارتباط با صفت تعداد برگ تحمل بیشتری به خشکی دارند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت



شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر تعداد برگ دانه‌های برخی ژنوتیپ پسته

Figure 2- Interaction effect of genotype × drought on leaf number of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

مشاهده نشد (جدول ۲). در این بررسی طول ساقه اختلاف معنی‌دار در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد به طوری که ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندق با ۹۱/۰۵ و ۶۵/۴۱ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین این صفت را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

طول ساقه

طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، اثر ژنوتیپ و اثر خشکی بر صفت طول ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد ولی در مورد اثر متقابل ژنوتیپ در خشکی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ($p \geq 0.05$)

های حساس کاهش بیشتری در ارتباط با این صفت نشان دادند. از طرفی نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های حسنی گرده گوهی (۱۶) روی پسته مطابقت دارد. طبق نتایج این محققان هر چه طول دوره خشکی طولانی‌تر باشد طول ریشه گیاه به منظور جذب آب از لایه‌های عمیق‌تر خاک، افزایش می‌یابد. گیاهان متحمل به خشکی جهت استفاده بهینه از آب موجود در خاک خشک طول ریشه خود را به میزان بیشتری افزایش می‌دهند و این افزایش ریشه همراه با کاهش قطر ریشه می‌باشد. تنش خشکی سبب فعال شدن ژن‌های تولید کننده پروتئین اکسپانزین در ریشه می‌شود که این پروتئین با سست کردن پیوندهای دیگلوکان بین رشته‌های سلولزی در دیواره سلولی، جذب آب را بیشتر کرده که با افزایش تورژسانس سلولی طول ریشه را افزایش می‌دهد (۳۷).

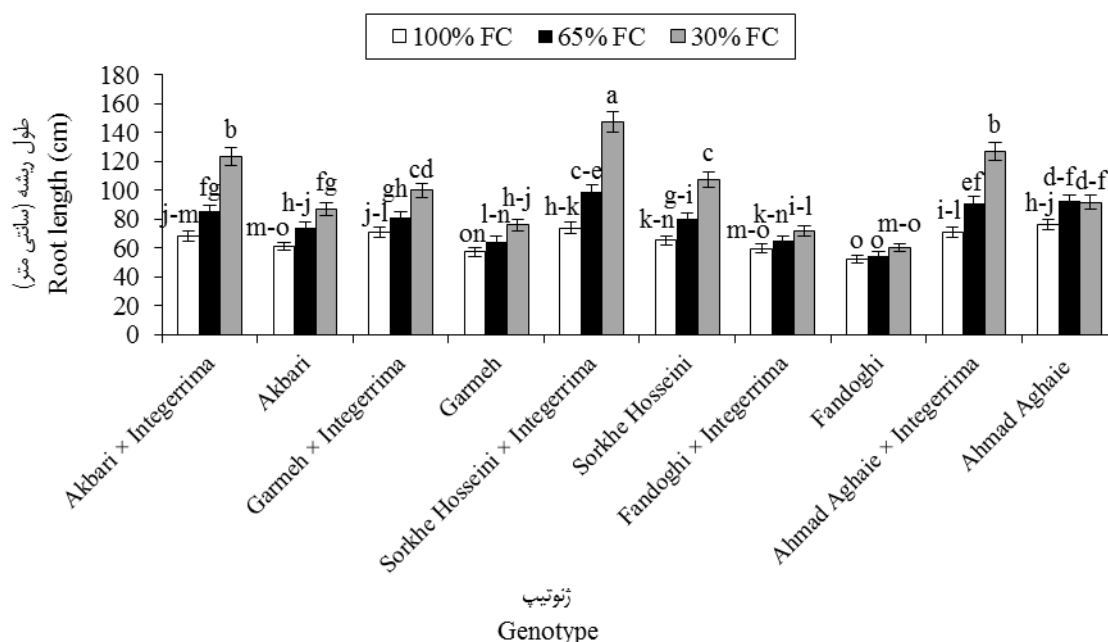
محتوای نسبی آب برگ

در این پژوهش، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر محتوای نسبی آب برگ ($p \leq 0.01$) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی روی این صفت معنی‌دار ($p \leq 0.05$) نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها، دورگه احمد آقایی × اینتگریمما با ۷۱/۳۳ درصد و فندقی با ۵۵/۴۷ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای رطوبت نسبی را دارا بودند. البته بین ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما و سرخه حسینی × اینتگریمما از لحاظ این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین سطوح مختلف خشکی نشان داد، تیمار شاهد نسبت به سایر سطوح بیشترین محتوای نسبی آب را دارد و اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح نشان داد. در بین دو سطح خشکی بعد از تیمار شاهد بیشترین مقدار از لحاظ این صفت با میانگین ۶۶/۲۰ درصد متعلق به تیمار تنش ملایم و کمترین میزان این صفت با میانگین ۵۵/۹۸ درصد به تیمار تنش شدید اختصاص داشت (جدول ۵). شایان ذکر است که یکی از ساز و کارهای تحمل به تنش خشکی در دانه‌های پسته کارایی بالاتر برای جذب آب از محیط ریشه است. ژنوتیپ‌هایی که بتوانند در شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ بیشتری را ذخیره کنند از مقاومت بیشتری در مقابل از دست دادن آب برخوردار خواهند بود (۳۰). بنابراین شاخص محتوای نسبی آب برگ شاخص فیزیولوژیکی مهمی در بررسی و ارزیابی درجه مقاومت به تنش خشکی و غربال‌گری ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی است (۱۸).

نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر طول ساقه نشان داد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهش از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) ۱۴/۲۴ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). با توجه به پر رشدی گونه اینتگریمما می‌توان طول ساقه بیشتر ژنوتیپ دورگه سرخه حسینی × اینتگریمما را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی و کریمی (۲۳) در ارتباط با مقاومت به خشکی ارقام پسته مطابقت دارد. طبق نتایج محققان مذکور رقم دورگه بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا در سطوح مختلف خشکی نسبت به ارقام قزوینی و بادامی ریز زرد ارتفاع ساقه بیشتری نشان داد و به عنوان متحمل‌ترین پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد. رشد سلول یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی است که به کمبود آب حساس است. تقسیم سلولی، بزرگ شدن و تمایزیابی فرآیندهای اصلی هستند که کمیت و کیفیت رشد گیاه را تعیین می‌کنند و تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی مختلف هستند که تنش خشکی یکی از این عوامل است. در شرایط کمبود آب، طویل شدن سلول‌ها به دلیل قطع جریان آب از آوند چوب به سلول‌های در حال طویل شدن متوقف می‌شود در نتیجه تنش خشکی باعث کاهش رشد می‌گردد و بر همین اساس طول ساقه کاهش می‌یابد (۵).

طول ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به طول ریشه (جدول ۲) نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و برهمکنش ژنوتیپ و خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد. در تمامی ژنوتیپ‌ها با افزایش سطوح خشکی افزایش طول ریشه در تنش ملایم و شدید مشاهده شد به طوری که در بین دانه‌ها، ژنوتیپ سرخه حسینی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، سرخ حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریمما، گرمه، احمد آقایی، فندقی × اینتگریمما و فندقی در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۴۹/۶۶، ۴۴/۴۵، ۴۳/۹۳، ۳۹/۱۴، ۲۹/۸۵، ۲۸/۸۸، ۲۴/۵۵، ۱۷/۲۱، ۱۶/۷۸، ۱۳/۳۵ درصد افزایش نشان دادند. طبق نتایج با افزایش تنش خشکی در تمامی سطوح ژنوتیپ سرخه حسینی × اینتگریمما و فندقی به ترتیب بیشترین و کمترین افزایش طول ریشه را نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. بنابراین ژنوتیپ پر رشد سرخه حسینی × اینتگریمما نسبت به سایر دانه‌های تحت تنش متحمل‌ترین ژنوتیپ در برابر خشکی از نظر طول ریشه می‌باشد (شکل ۳). نتایج این پژوهش با نتایج آزمایشات قاسمی (۱۴) روی پسته مطابقت نداشت. محققان مذکور گزارش کردند با افزایش تنش خشکی طول ریشه در تمامی دانه‌ها کاهش یافت و ژنوتیپ



شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر طول ریشه دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 3- Interaction effect of genotype × drought on root length of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

میزان نشت الکترولیت در پسته افزایش می‌یابد. در شرایط وجود تنش های مختلف و به ویژه خشکی، پایداری غشای سلولی از بین رفته و در شرایطی که برگ در یک محیط آبی قرار بگیرد، مواد محلول از سلول های آن تراوش می‌کند، لذا پایداری غشاء به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن مشخص می‌گردد (۹). بنابراین نشت الکترولیتی کم، یک شاخص از ثبات غشای سلول و تحمل به تنش خشکی می‌باشد (۲۸).

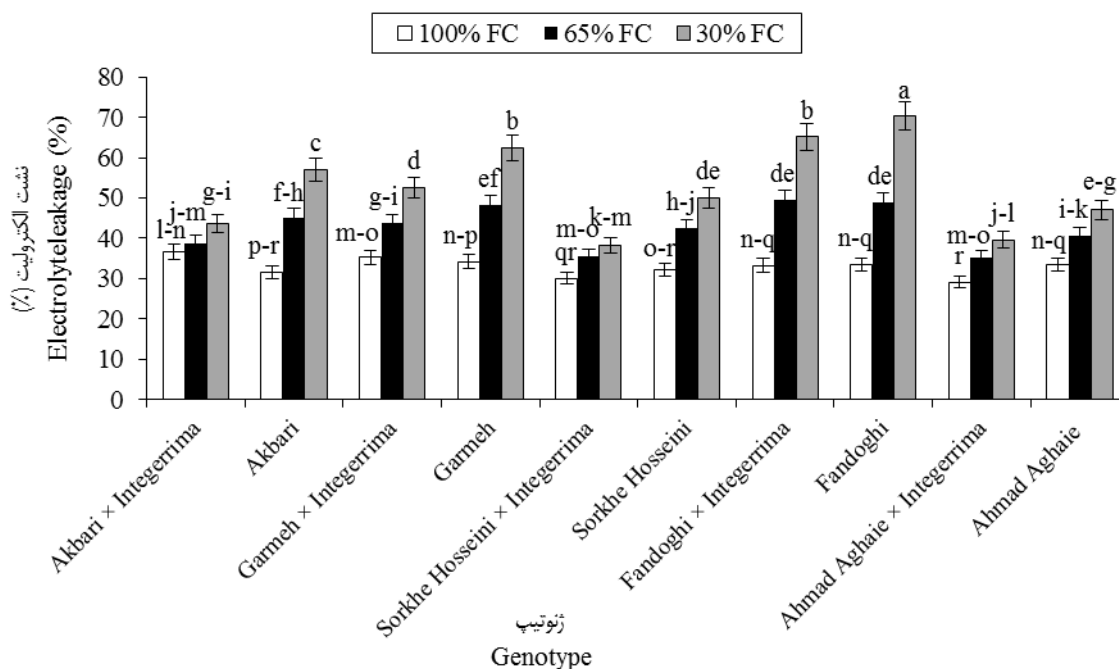
رنگیزه‌های گیاهی

کلروفیل a، b و کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a و کل نشان داد که این صفات فقط تحت تأثیر ژنوتیپ و خشکی واقع شدند ($p \leq 0.01$) ولی داده‌های مربوط به کلروفیل b نشان داد که علاوه بر اثرات ساده ژنوتیپ و خشکی، بر همکنش ژنوتیپ و خشکی نیز بر روی این صفت در سطح یک درصد معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$) (جدول ۳).

نشت الکترولیت

اثرات ساده و متقابل عوامل آزمایشی از نظر میزان نشت الکترولیت اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0.01$) نشان داد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان نشت الکترولیت در همه ژنوتیپ‌ها افزایش یافت (شکل ۴). بیشترین و کمترین میزان این صفت به ترتیب مربوط به بالاترین سطح خشکی و شاهد در هر ۱۰ ژنوتیپ بود به طوری که در بین دانه‌ها، ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندق با میانگین ۲۱/۱۳ و ۵۲/۲۹ درصد به ترتیب از کمترین و بیشترین میزان نشت الکترولیت در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد برخوردار بودند. در ارتباط با این صفت ژنوتیپ‌های دورگه اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، گرمه × اینتگریمما، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه و دورگه فندق × اینتگریمما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در سطح آخر خشکی نسبت به شاهد به ترتیب ۱۶/۱۲، ۲۶/۲۵، ۲۸/۷۵، ۳۲/۷۷، ۳۵/۷۱، ۴۴/۷۲، ۴۵/۱۲، ۴۸/۹۵ درصد افزایش مشاهده شد. نتایج تحقیقات متعددی نشان داده است که با افزایش میزان خشکی،



شکل ۴- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر نشت الکترولیت دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

 Figure 4- Interaction effect of genotype × drought on electrolyte leakage of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته تحت شرایط تنش خشکی

Table 3- ANOVA (mean of squares) for studied biochemical traits in some pistachio genotypes under drought stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll l a	کلروفیل b Chlorophyll l b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	پرولین برگ Leaf Proline	پرولین ریشه Root Proline
ژنوتیپ Genotype	9	0.084**	0.130**	0.419**	0.1194**	48845.09**	64779.70**
خشکی Drought	2	0.178**	0.075**	0.470**	0.1933**	2703625.22**	967875.68**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	0.0003 ^{ns}	0.0005**	0.0013 ^{ns}	0.00097 ^{ns}	15163.56**	19868.45**
خطا Error	30	0.001	0.00005	0.0046	0.0017	672.21	392.78
ضریب تغییرات C.V (%)		6.09	3.07	8.15	5.52	7.31	9.91

** و *؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.

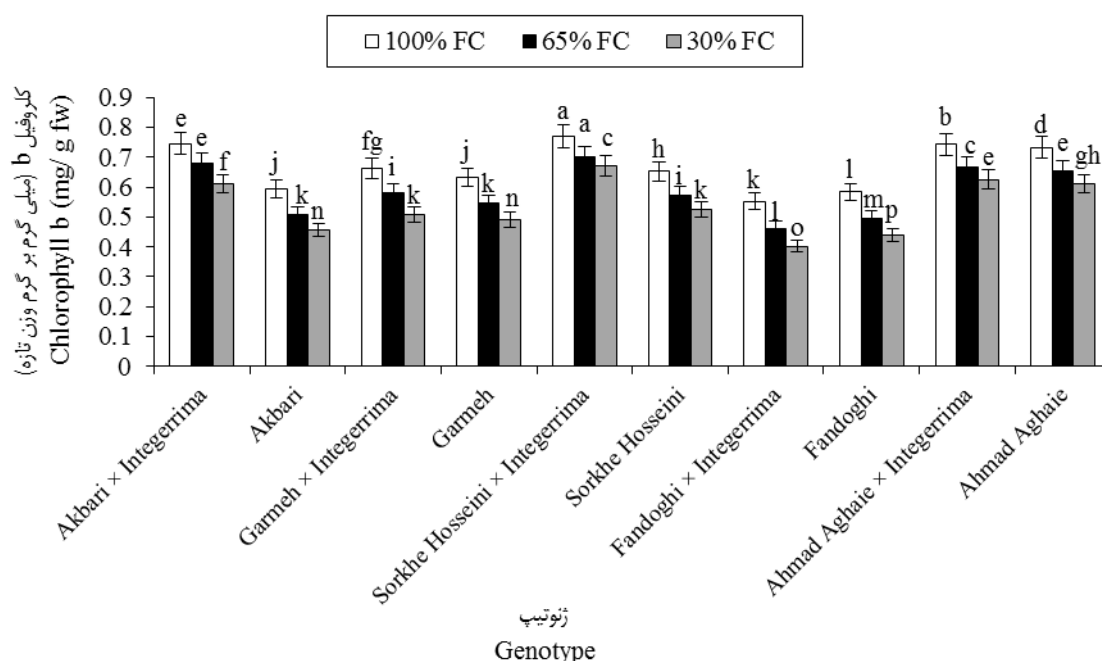
*, **, ^{ns}: Significant at 1% and 5% of probability level and no significant, respectively

۵) با افزایش تنش خشکی از میزان این صفت در تمامی دانه‌ها کاسته شد. در تمامی سطوح خشکی ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریم نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها میزان کلروفیل b بیشتری نشان داد و از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار بود. با افزایش سطوح خشکی و در تنش شدید از میزان کلروفیل b در همه دانه‌ها کاسته شد ولی دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریم با کاهش ۱۲/۹۲ درصد نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در این سطح از تنش

مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میزان کلروفیل a نشان داد که بیشترین میزان این صفت در دورگه اکبری × اینتگریم و کمترین میزان آن در دورگه فندق × اینتگریم مشاهده شد (جدول ۴). نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر کلروفیل a نشان داد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهش از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد ۱۹/۹۲ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). در ارتباط با صفت کلروفیل b (شکل

گره، اکبری، گرمه × اینتگریمما و فندقی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۲۴/۹۳، ۲۳/۱۸، ۲۳/۰۴، ۲۲/۴۵، ۱۹/۵۹، ۱۸/۰۲، ۱۶/۷۰، ۱۵/۷۷ درصد کاهش نشان دادند.

میزان کلروفیل b بیشتری نشان داد و از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت. بیشترین میزان کاهش این صفت در بین دانه‌ها در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریمما با کاهش ۲۷/۱۴ درصد مشاهده شد. در ارتباط با این صفت ژنوتیپ‌های احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، اکبری × اینتگریمما، سرخه‌حسینی،



شکل ۵- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان کلروفیل b دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 5- Interaction effect of genotype × drought on Chlorophyll b content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

خشکی می‌تواند منجر به کاهش کارایی فتوسنتزی گیاهان گردد و گیاهانی که بتوانند سبزینه خود را در حد بالایی حفظ کنند از فتوستز بالاتری برخوردار خواهند بود (۳۲). بنابراین تنش خشکی باعث کاهش میزان سبزینه برگ به دلیل شکسته شدن کلروپلاست‌ها، پیری زودرس گیاهان و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین تشکیل پروتوکلروفیل در شرایط تنش متوقف می‌شود (۳۲). طبق نتایج ما در شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما تجزیه کلروفیل کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند و از تحمل بیشتری در شرایط تنش برخوردار بودند. نتایج پژوهش حاضر با نتایج قاسمی و همکاران (۱۴) و فهیمی خویردی و همکاران (۱۳) روی پسته مبنی بر کاهش بیشتر میزان کلروفیل (a، b و کل) در ژنوتیپ های حساس در شرایط تنش خشکی همخوانی داشت.

مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میزان کلروفیل کل روندی تقریباً مشابه کلروفیل a نشان داد به طوری که بیشترین میزان این صفت در ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و کمترین میزان آن در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریمما مشاهده شد (جدول ۴). همچنین با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهشی از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد ۲۲/۹۶ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). طبق نتایج بیشترین میزان کلروفیل برگ متعلق به ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما و کمترین میزان این صفت مربوط به ژنوتیپ‌های فندقی و دورگه فندقی × اینتگریمما بود. بر اساس برخی مشاهدات ظاهری در زمان تنش خشکی در پژوهش حاضر، شدت رنگ سبزینه‌ای در ژنوتیپ‌های حساس به تنش به میزان بیشتری کاهش نشان داد. کاهش در میزان سبزینه برگ در شرایط تنش

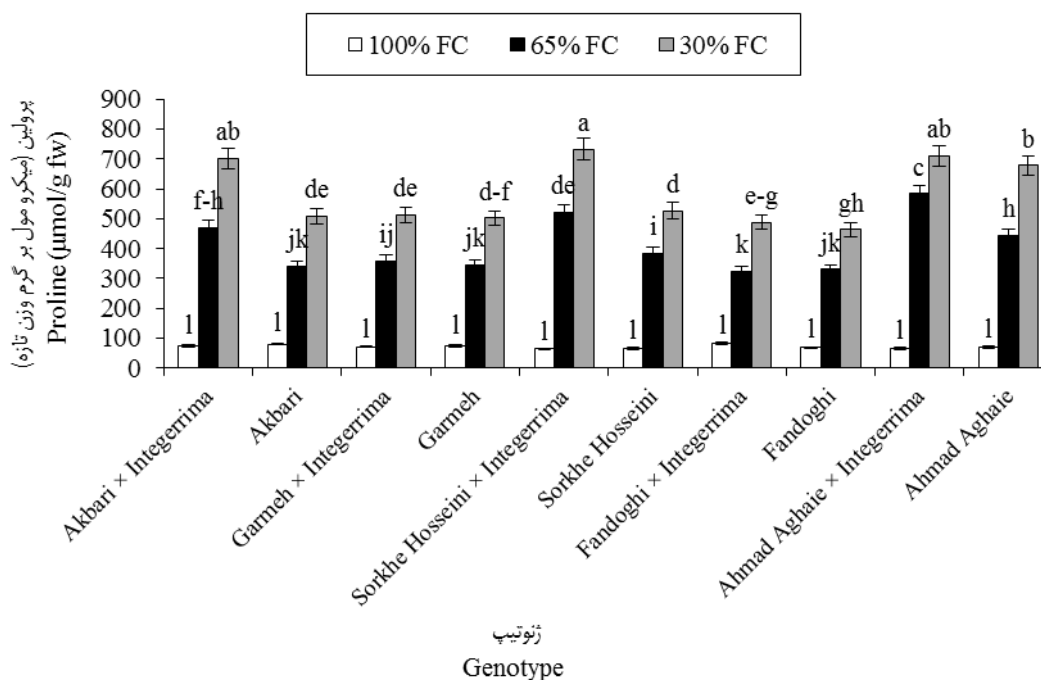
کارتونوئید

طبق جدول تجزیه واریانس، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر میزان کارتونوئید ($P \leq 0.01$) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر روی این صفت اثر معنی‌داری ($P \geq 0.05$) نشان نداد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده (جدول ۴) نشان داد که میزان کارتونوئید در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۰/۹۳۶ الی ۰/۶۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما و فندق‌ی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، فندق‌ی × اینتگریمما، گرمه × اینتگریمما، اکبری و گرمه در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳). در مقایسه بین سطوح مختلف خشکی از لحاظ این صفت، تیمار شاهد با میانگین ۰/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر بیشترین میانگین کارتونوئید را به خود اختصاص داد. میزان کارتونوئید در سطوح خشکی ملایم و شدید به ترتیب به میزان ۶/۹۸ و ۱۶/۶۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول ۵). کارتونوئیدها نقش بسیار مهمی در حفاظت نوری گیاهان در مقابل تنش خشکی دارند. کارتونوئیدها گروهی از مولکول‌های بزرگ ایزوپروپنئیدی هستند که رنگیزه‌های جمع‌کننده انرژی نورانی می‌باشند و به هیدروکربن‌های کارتن مانند لیکوپن و گزانتوفیل‌ها تقسیم می‌شوند. کارتونوئیدها از عوامل اصلی اتلاف انرژی

اضافی از طریق گرما هستند و نقش محافظت‌کننده دارند (۱۹). در واقع کارتونوئیدها به عنوان رنگدانه‌های کمکی عمل می‌نمایند و به عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در حفاظت از فرآیندهای فیتوشیمیایی و پایداری آنها نقش دارند. بنابراین بالاتر بودن کارتونوئیدها در یک ژنوتیپ امکان مقاومت به شرایط تنش را فراهم می‌کند (۱).

پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ، خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر میزان تجمع پرولین برگ و ریشه معنی‌دار بود ($P \leq 0.01$) (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین همگام با افزایش شدت خشکی میزان تجمع پرولین در برگ‌ها نسبت به شاهد افزایش داشت و اختلافات بسیار معنی‌دار بود. از نظر میزان پرولین، گیاهانی که در تیمار شاهد قرار گرفتند، با میانگین ۷۱/۳۷ میکرومول در گرم وزن تر، کمترین مقدار پرولین را داشتند، در حالی که گیاهان در تیمار تنش ملایم و شدید به ترتیب با میانگین ۴۱۰/۱۹ و ۵۸۵/۳۶ میکرومول در گرم وزن تر مقدار پرولین بیشتری را نشان دادند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به ترتیب ژنوتیپ‌های دورگه سرخه حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما میزان تجمع پرولین بیشتری در برگ داشتند و اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها و باهم نشان دادند (شکل ۶).

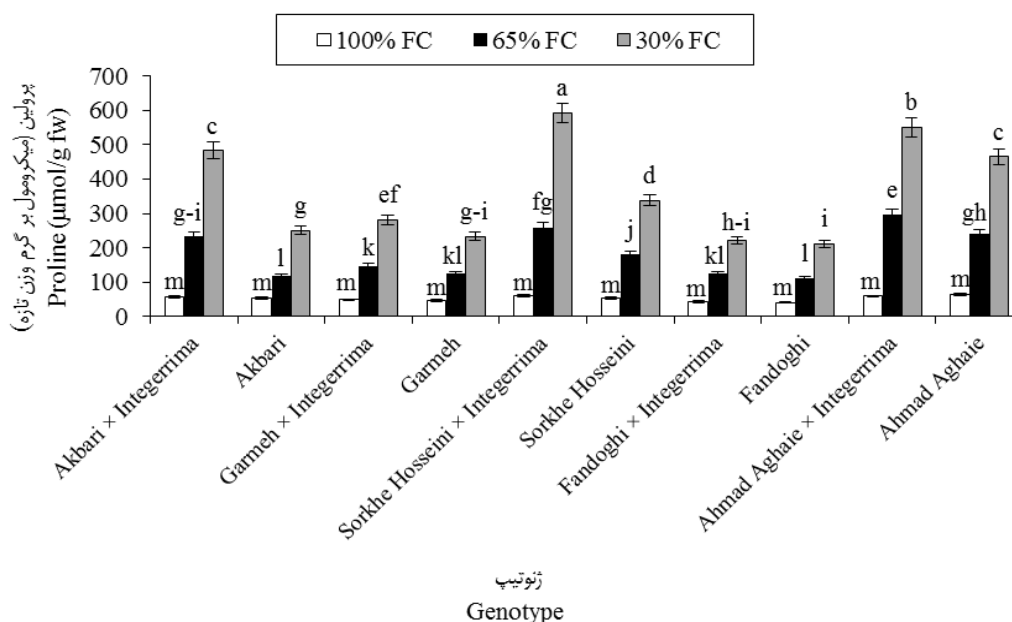


شکل ۶- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین برگ دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 6- Interaction effect of genotype × drought on leaf proline content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

خشکی نشان دادند. البته بر اساس نتایج این پژوهش و بر مبنای مطالعات قبلی پرولین می‌تواند به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی در سطوح مختلف خشکی در پسته در نظر گرفته شود (۱۳ و ۱۵). در حقیقت این طور می‌توان بیان کرد که افزایش پرولین تحت تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی با میزان تحمل آنها به تنش همبستگی دارد و به طور کلی محتوی پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس می‌باشد (۸). در پژوهشی عباس پور و همکاران (۲) گزارش کردند که تنش خشکی منجر به افزایش بیشتر غلظت پرولین برگ و ریشه در دانه‌های پسته رقم اکبری نسبت به سایر دانه‌ها گردید و باعث افزایش مقاومت به تنش شد. بر اساس یافته‌های ارنجیلو و همکاران (۶) گیاهانی که در شرایط خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند در شرایط تنش فشار تورژانس سلول‌های خود را حفظ نمایند. بنابراین ژنوتیپ‌های با مقدار بیشتر پرولین می‌توانند به شرایط خشکی متحمل‌تر باشند.

پرولین ریشه گیاهان نیز مانند پرولین برگ تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و در ارتباط با این صفت نیز ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریم، احمد آقایی × اینتگریم و اکبری × اینتگریم نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها مقادیر بالاتری را با افزایش سطوح خشکی نشان دادند (شکل ۷). البته میزان افزایش پرولین برگ نسبت به ریشه بیشتر بود که با نتایج فهمی خویردی و همکاران (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. محمد خانی و حیدری (۲۵) دلیل کمتر بودن میزان پرولین ریشه را انتقال آن به قسمت‌های هوایی برگ به منظور تعدیل پتانسیل اسمزی و جلوگیری از هدررفت آب تحت شرایط خشکی گزارش کردند. محقق مذکور گزارش کرد تجمع بیشتر پرولین برگ تحت شرایط خشکی احتمالاً به دلیل بیوسنتز پرولین در کلروپلاست می‌باشد. البته نتایج آزمایش ما با نتایج آزمایش قاسمی (۱۴) و روزبان (۳۱) روی پسته مطابقت نداشت. طبق نتایج محققان مذکور پرولین نمی‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های پسته باشد چرا که برخی ژنوتیپ‌ها که به عنوان ژنوتیپ حساس ارزیابی شدند تجمع پرولین بیشتری با افزایش تنش



شکل ۷- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین ریشه دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 7- Interaction effect of genotype × drought on root proline content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

بین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به این ۱۰ ژنوتیپ، ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریم، احمد آقایی × اینتگریم و اکبری × اینتگریم بواسطه مقادیر بالای در اکثر صفات به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و ژنوتیپ‌های دورگه فندق × اینتگریم و فندق به دلیل مقادیر پایین در اکثر صفات به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها ارزیابی شدند. همچنین طول ریشه بیشتر در تمامی سطوح خشکی

نتیجه‌گیری

بر اساس پژوهش فوق تمامی پارامترهای مورد اندازه‌گیری تحت تأثیر تیمار خشکی واقع شدند و سطوح مختلف خشکی آثار معنی‌داری بر تمامی صفات داشت به طوری که با افزایش تنش خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین کاهش یافتند. در

ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح در مناطق خشک استفاده کرد و لازم است در آینده پیوند ارقام مختلف روی این ژنوتیپ‌ها انجام و مقاومت پایه‌های پیوندی و رفتار پیوندک نسبت به سطوح مختلف خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد.

اعمال شده در ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دهنده کارایی بهتر این ژنوتیپ‌ها در جذب آب و مواد غذایی می‌باشد. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی، به نظر می‌رسد بتوان از ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریم، احمد آقایی × اینتگریم و اکبری × اینتگریم به عنوان

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی

Table 4- Mean comparison of sometrats measured in pistachio genotypes under drought stress

ژنوتیپ Genotype	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتنوئید Carotenoids (mg/g fw)
احمد آقایی Ahmad Aghaie	76.04 ^{bc}	70.33 ^{ab}	0.665 ^b	0.985 ^c	0.810 ^c
احمد آقایی × اینتگریم Ahmad Aghaei × Integerrima	76.95 ^b	71.33 ^a	0.678 ^b	1.04 ^b	0.936 ^a
فندقی Fandoghi	65.41 ^f	55.47 ^e	0.505 ^d	0.612 ^f	0.624 ^f
فندقی × اینتگریم Fandoghi × Integerrima	73.86 ^{b-d}	67.50 ^{a-c}	0.472 ^e	0.603 ^f	0.735 ^d
سرخه حسینی Sorkhe Hosseini	87.59 ^a	68.81 ^{ab}	0.583 ^c	0.809 ^d	0.745 ^d
سرخه حسینی × اینتگریم Sorkhe Hosseini × Integerrima	91.05 ^a	71.03 ^a	0.679 ^b	1.12 ^a	0.879 ^b
گرمه Garmeh	69.18 ^{ef}	66.62 ^{bc}	0.555 ^c	0.715 ^e	0.661 ^e
گرمه × اینتگریم Garmeh × Integerrima	70.69 ^{de}	69.14 ^{ab}	0.583 ^c	0.819 ^d	0.729 ^d
اکبری Akbari	72.07 ^{c-e}	63.90 ^{cd}	0.520 ^d	0.683 ^e	0.685 ^e
اکبری × اینتگریم Akbari × Integerrima	73.99 ^{b-d}	68.91 ^{ab}	0.714 ^a	0.988 ^c	0.840 ^c

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.
Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف خشکی بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته

Table 5 – Effect of different levels of drought on traits studied in pistachio genotypes

سطوح خشکی Drought levels	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتنوئید Carotenoids (mg/g fw)
شاهد (ظرفیت زراعی) Control (Field capacity)	80.67 ^a	71.65 ^a	0.666 ^a	0.945 ^a	0.830 ^a
تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) Moderate stress (65% of field capacity)	77.19 ^b	66.20 ^b	0.587 ^b	0.842 ^b	0.772 ^b
تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) Severe stress (30% of field capacity)	69.18 ^c	55.98 ^c	0.533 ^c	0.728 ^c	0.692 ^c

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.
Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

- 1- Abbasi A., Sarvestani R., Mohammadi B., and Bagheri A. 2014. Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes, *Journal of Agricultural Science and Technology* 16: 505-516.
- 2- Abbaspour H., Saeidi-Sar S., Afshari H., and Abdol-Wahhab M. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions, *Journal of Plant Physiology* 169: 704-709.
- 3- Ali A., Ali Z., Quraishi U.M., Kazi A.G., Malik R.N., Sher H., and Mujeeb-Kazi A. 2014. Integrating physiological and genetic approaches for improving drought tolerance in crops, *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance* 2: 315-345.
- 4- Amrijit K.N., Kumari S., and Sharma D.R. 2005. In vitro selection and characterization of water stress tolerance culture of bell pepper. *Journal of Plant Physiology* 10: 14-19.
- 5- Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L., Saleem M.F., Man C., and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, *African Journal of Agricultural Research* 6: 2026-2032.
- 6- Aranjuelo I., Molero G., Erice G., Christophe Avice J., and Nogues S. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.), *Journal of Experimental Botany* 62: 111-123.
- 7- Araus J.L., Casadesus J., Bort J., Nachit M.M., Villegas D., Aparicio N., and Royo C. 2015. Some remarks on ecophysiological traits for breeding, *Journal of Cereals and Oats Mediterranean* 40: 57-62.
- 8- Ashraf M., and Foolad M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Journal of Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- 9- Atarodi H., Irannejad H., Shirani A., Amiri R., and Akbari Gh. 2012. Effects of drought stress and planting date on native plant, on the electrical conductivity of the resulting seeds. *Iranian Journal of Agricultural Research* 9(2): 242- 247. (In Persian)
- 10- Baghari V. 2010. Effects of arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) fungi on drought tolerance of pistachio seedlings. M. Sc. Thesis, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Vali-e-Asr, Rafsanjan. (In Persian)
- 11- Barrs H.D., and Weaterley P.E. 1962. A re-examination of the relative turgidity techniques for the estimating water deficit in leaves, *Australian Journal of Biological Sciences* 15: 413-428.
- 12- Ben Hamed S., Lefi E., and Chaieb M. 2016. Physiological responses of *Pistacia vera* L. versus *Pistacia atlantica* Desf. To water stress conditions under arid bioclimate in Tunisia, *Journal of Scientia Horticulturae* 203: 224- 230.
- 13- Fahimi Khoyerd F., Shamshiri M.H., and Estaji A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress, *Journal of Scientia Horticulturae* 198: 44-51.
- 14- Ghasemi M., Arzani K., Yadollahi A., and Hokmabadi H. 2013. Drought stress and carbon isotope discrimination in some pistachio seedlings. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University. Tehran.
- 15- Gholipour Y., and Zamani Z. 2001. Amino acid proline fluctuations in some drought-stressed pistachio rootstocks. *FAO-CIHEAM, NUCIS Newsletter* 10: 31-33.
- 16- Gijon M. C., Gimenez C., Perez-Lopez D., Guerrero J., Couceiro J. F., and Moriana A. 2010. Rootstock influences the response of pistachio (*Pistacia vera*. cv Kerman) to water stress and rehydrations, *Journal of Scientia Horticulturae* 125(4): 666-671.
- 17- Hasaani Gardekuhi M.R. 2011. Evaluation of the combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and Salicylic Acid on drought resistance of pistachio seedlings of Abarqi cultivar. MSc. Thesis, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Rafsanjan. (In Persian)
- 18- Hasheminasab H., Aliakbari A., and Baniasadi R. 2014. Optimizing the relative water protection (RWP) as novel approach for monitoring drought tolerance in Iranian pistachio cultivars using graphical analysis, *International Journal of Biosciences* 4: 194-203.
- 19- Jahns P., and Holzwarth A.R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in Photoprotection of photosystem II. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta* 1817: 182-193.
- 20- Kizhedath A., and Suneetha V. 2011. Estimation of chlorophyll content in common household medicinal medicinal leaves and their utilization to avail health benefits of chlorophyll, *Journal of Pharmacy Research* 4(5): 1412-1413.
- 21- Kuchaki A., and Srmdnya G.h. 2005. *Journal of Crop Physiology*. Jahad University Publications, Ferdowsi University of Mashhad. Iran.
- 22- Lutts S., Kinet J.M., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of Annals of Botany* 78(3): 389- 398.
- 23- Maleki kuhbani A., and Karimi H.M. 2013. Evaluation of pistachio and hybrids rootstocks (*P.vera* × *P. atlantica*) to drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science* 44 (1): 81-93. (In Persian)
- 24- Modarres R., and de Paulo Rodrigues da Silva V. 2007. Rainfall trends in arid and semi-arid regions of Iran, *Journal of Arid Environments* 70: 344-355.

- 25- Mohammadkhani N., and Heidari R. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. World Appl. Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran. (In Persian)
- 26- Moriana A., Memmib H, Centeno A., Martin-Palomo M. J., Corell M., Torrecillas A., and Perez-Lopez D. 2018. Influence of root stock on pistachio (*Pistachio vera* L cv Kerman) water relations, Journal of Agricultural Water Management 1-194.
- 27- Office of Statistics and Information Technology. 2008. Agricultural Statistics. Assistance of Planning and Economic of Ministry of Agriculture Jihad, Tehran Iran.
- 28- Ortiz N., Armada E., Duque E., Roldan A., and Azcon R. 2015. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains, Journal of Plant Physiology 174: 87-96.
- 29- Paquin R., and Lechasseur P. 1979. Observationssur une methode de dosage dela praline libre dans les extraits de plantes. Canadian Journal of Botany 57: 1851-1854.
- 30- Rai K., Kalia R.K., Singh R., Gangola P., and Dhawan A. 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection an overview of the recent progress, Journal of Environmental and Experimental Botany 71: 89-98.
- 31- Rozban M.R. 2009. Investigation of physiological mechanisms of drought tolerance in three of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings .Ph.D. Thesis, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. (In Persian)
- 32- Salisbury F. B., and Ross C. W. 1992. Journal of Plant Physiology, Belmont, Wadsworth, USA. 682 pp.
- 33- Sedaghati N., sheybani Tadriji Z., Tahabadipur A., Hokmabadi H., Haghdel M., and Abdollahi M. 2009. Pistachio Production Guide, Third edition, Sarv Publications in collaboration with Research, Agricultural education and natural resources. Tehran. 563 p.
- 34- Shibairo S. I., Upadhyaya M. K., and Toivonen P. M. A. 1998. Influence of preharvest water stress on postharvest moisture loss of carrot (*Daucus carota* L.), Journal of Horticultural Science and Biotechnology 73: 347- 352.
- 35- Taiz L., and Zeiger E. 2002. Sinauer associates, Inc. Journal of Plant Physiology 690p.
- 36- Uddin G., Rauf A., Rehman T., and Qaisar M. 2011. "Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. *integerrima*", Middle-East Journal of Scientific Research 5: 707-711.
- 37- Xing H.L., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., and Zhang C. 2004. Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss, Journal of Plant Growth Regulation 42: 61-68.
- 38- Zeinoddini A., Amirpure M., and Farazmand, M. 2007. Evaluation of irrigation quality on soils mutation and pistachio yield in Anar zone. 10th Congeress of Iranian Soil Science, Karaj, 355-356. (In Persian)



Evaluation of some Vegetative and Physiological Traits of Domestic Pistachio Seedlings in Controlled Crosses with Integerrima Pollen Grains in Order to Access Drought Tolerant Genotypes

H. Farhadi¹- M. Sharifani^{2*}- M. Alizadeh³- H. Hokmabadi⁴- S. Aliniaiefard⁵

Received: 15-04-2020

Accepted: 27-05-2020

Introduction: Agriculture of Iran is known worldwide for its pistachio (*Pistacia vera* L.) and is one of the most important non-oil exports. Therefore, attempts to improve the yield can be one of the primary goals in the pistachio industry in Iran. Due to the drought problem in Iran, increasing the cultivation area to increase production may not be a good option. Therefore, the purpose of this study was to compare the drought tolerance of different pistachio seedlings from open pollination and pollinated with domestic species pollen and controlled crosses using integerrima pollen in order to find the most tolerant genotypes.

Materials and Methods:

The first step: Controlled pollination and hybrid seed production In order to produce hybrid seeds, a controlled pollination using integerrima pollen grains at Razavi Pistachio Research Institute was conducted for five cultivars; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh and Fandoghi. Each replication had a tree and from each tree, seven branches were selected that had at least three to four flower buds and four branches from it for controlled pollination, two branches for open pollination and a branch was considered for negative control. Before the flower clusters were fully opened, 70% alcohol was sprayed on the branches to prevent the possibility of unwanted pollen. In order to ensure controlled pollination, in the bud swelling stage, the branches were isolated by double-layered bags measuring 30 × 45 cm. Pollen was collected from the Arzooieh area of Kerman province to select the male parent of integerrima. Then, a combination of flour and integerrima pollen (1:1 ratio) was injected into the insulating bags and pollination was performed. In late summer, hybrid seeds were harvested.

The second stage: Drought resistance test of hybrids obtained from first step The experiment was conducted as factorial based on a Completely Randomized Design with four replications at the research greenhouse located in Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources during 2019-2020. The treatments were consisted of ten pistachio genotypes; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh, Fandoghi and (hybrids between integerrima as the pollinizer and genotypes of Ahmad Aghaie, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh and Fandoghi were applied as the maternal parent and three levels of drought including control (field capacity), mild stress (65% of field capacity) and severe stress (30% of field capacity) were applied on 3 months old seedlings for 84 days. Seeds obtained from free and controlled pollination were planted in pots with a diameter of 33 cm and a height of 35 cm on April 6, 2017. Three seeds were planted in each experimental unit, and after planting and ensuring establishment, the number of plants in the pot was reduced to the final level of one in each pot. Each replication was consisted of four experimental units or four pots, and each pot was contained a plant. At the end of the experiment, growth and physiological parameters were measured. Statistical analysis of the results was performed using SAS 9.1 software.

Results and Discussion: Results of statistical analysis showed drought stress had a significant effect on leaf number, stem length, root length, leaf relative water content, electrolyte leakage, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, and leaf and root proline content. With increasing drought levels, all traits except root length, electrolyte leakage and proline content were reduced in comparison with control. Sorkheh Hosseini × integerrima, Ahmad Aghaei × integerrima, Akbari × integerrima interactions and genotypes of fandoghi and

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Assistant Professors, Department of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: mmsharif2@gmail.com)

4- Assistant Professor, Pistachio Research center, Agricultural Research Education and Extension Organization of Semnan Province, Dameghan Center, Iran

5- Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran

fandoghi $\times$ integerrima interaction were superior in the most of traits by drought, respectively. Based on the results it seems hybrids of Sorkhe Hosseini $\times$ integerrima, Ahmad Aghaei $\times$ integerrima and Akbari $\times$ integerrima crosses will be used as genotypes with dry-tolerant genes to modify cultivars in arid regions.

Keywords: Drought stress, Electrolyte leakage, Leaf relative water content, Proline



مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر مثبت سلنیوم بر کاهش تجمع نیترات در اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) و کاهو (*Lactuca sativa* L.)

محبوبه جلالی^{۱*} - نگین صالحی چگنی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰

چکیده

غلظت زیاد نیترات مخصوصاً در سبزیجات برگی، تهدید بزرگی برای سلامت انسان محسوب می‌شود. سلنیوم با تأثیر بر رشد و نمو گیاهان و به خاطر حضور در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، یک عنصر اساسی برای سلامتی انسان است. با این حال تأثیر سلنیوم بر تجمع نیترات در سبزیجات هنوز مشخص نیست. به منظور ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف سلنیوم بر عملکرد، ظرفیت فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آسیمیلایون نیتروژن و تجمع نیترات در کاهو (*Lactuca sativa* L.) رقم گریت لیک و اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) رقم سیروس، آزمایشی با شش سطح سلنیوم (۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۵۰ میکرومول بر لیتر از منبع سلنات سدیم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط هیدروپونیک انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد سلنیوم باعث کاهش غلظت نیترات در هر دو گیاه شد و میزان این کاهش وابسته به غلظت بود. کمترین غلظت نیترات در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد. کاربرد سلنیوم از طریق افزایش هدایت روزنه‌ای و میزان کلروفیل باعث افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه شد. غلظت‌های کم سلنیوم (کمتر از ۵ میکرومول بر لیتر)، علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز با افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ریداکتاز، نیتريت ریداکتاز و گلوکاتامین سنتتاز باعث تحریک آسیمیلایون نیترات شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد سلنیوم تأثیر مثبتی بر کاهش تجمع نیترات در هر دو گیاه از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم نیترات داشت. پیشنهاد می‌شود که غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلنیوم می‌تواند برای کاهش غلظت نیترات و افزایش عملکرد کاهو و اسفناج در کشت هیدروپونیک استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: آسیمیلایون نیتروژن، ظرفیت فتوسنتزی، سلنیوم، نیترات

مقدمه

نیتروژن‌آمین تبدیل شده که از عوامل اصلی ایجاد سرطان می‌باشد. به دلیل اثرات سوء نیترات بر سلامتی انسان، امروزه توجه زیادی به تجمع این یون در سبزیجات شده است و به عنوان یک شاخص بیولوژیک کیفی در سبزیجات در نظر گرفته شده است (۶). سبزیجات در بسیاری از کشورهای جهان به دلیل ارزش غذایی فراوانی که دارند، از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشند و تقریباً ۸۵ درصد نیترات موجود در رژیم غذایی انسان از طریق مصرف سبزیجات، مخصوصاً سبزیجات برگی مثل اسفناج و کاهو می‌باشد (۳۲).

از سال ۱۹۵۷ سلنیوم به خاطر حضور در سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی مثل آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و تعادل هورمونی به عنوان یک ماده اساسی برای سلامتی انسان و حیوان شناخته شد که می‌تواند نقش یک آنتی‌اکسیدانت را در گیاهان بازی کند (۳۷). برخلاف سایر عناصر، محدوده بین کمبود (کمتر از ۴۰ ماکروگرم در روز) و سیمت (بیشتر از ۴۰۰ ماکروگرم در روز) این عنصر بسیار باریک است (۲۱). سلنیوم نمی‌تواند به طور مستقیم به غذا افزوده شود،

نیتروژن در ساختمان اسیدهای آمینه، بازهای پورینی، آلکالوئیدها و کلروفیل وجود دارد. مقدار نیتروژن مورد نیاز گیاه به نوع گونه گیاهی و خاک بستگی دارد. این عنصر به دو شکل آمونیم و نیترات جذب گیاه می‌شود. گیاهان عمدتاً یون نیترات را جهت جذب ترجیح می‌دهند (۹). نیترات به عنوان مهمترین منبع تامین نیتروژن، به طور گسترده‌ای در تولید سبزیجات، مخصوصاً در سیستم کشت هیدروپونیک مورد استفاده قرار می‌گیرد.

به طور کلی سبزیجات برگی مثل اسفناج و کاهو نسبت به سبزیجات میوه‌ای و دانه‌ای تجمع نیترات بیشتری دارند. نیترات در بدن انسان بالغ به نیتريت تبدیل شده و در ترکیب با آمین‌ها، به

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
(Email: jalali.mah@lu.ac.ir)
(*)- نویسنده مسئول

لذا غلظت سلنیوم در گیاهان می‌تواند به روش‌های مختلفی از جمله اضافه کردن سلنیوم به خاک، خیساندن بذور در محلول سلنیوم قبل از کشت، کشت‌های هیدروپونیک در محلول غذایی حاوی ترکیبات سلنیوم و کاربرد محلول‌پاشی گیاهان با محلول سلنیوم، افزایش داد (۴).

نشانه‌هایی وجود دارد که سلنیوم ممکن است روی بیوسنتز گلیکوالکالوئیدها، کلروفیل (۲۷) و آسیمیلاسیون نیتروژن (۱) موثر باشد. شواهد نشان می‌دهد که غلظت‌های کم سلنیوم باعث افزایش رشد و مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها می‌شود اگرچه هنوز به عنوان یک عنصر ضروری برای رشد گیاه شناخته نشده است (۲۸). همچنین سلنیوم به طور قابل توجهی محتوای کلروفیل را بالا می‌برد و این افزایش در کل محتوای کلروفیل می‌تواند در طی افزایش محتوای کارتنوئید باشد، چرا که کارتنوئیدها کلروفیل را از تخریب اکسیداسیون نوری حفاظت می‌کنند (۲۲). نتایج بررسی‌ها بر روی سبزیجات برگ‌ی نشان داده است که تیمارهای سلنیومی بر روی غلظت عناصری مثل نیترات اثرگذار بوده و باعث افزایش نیترات گردیده است (۲۲).

در گیاهان اگر جذب نیترات توسط گیاه بیشتر از میزان متابولیک آن باشد، نیترات در گیاه تجمع می‌یابد. مطالعات قبلی نشان داده که افزودن سلنیوم به گیاهان می‌تواند بر متابولیسم نیتروژن در گیاهان تاثیر گذار باشد و این تاثیر بستگی به میزان غلظت سلنیوم دارد (۳) و (۲۹). سلنیوم بر جذب و انتقال تعدادی از عناصر نقش دارد (۴۰). با این حال اطلاعات کمی در مورد تاثیر سلنیوم بر جذب و انتقال نیترات در گیاه وجود دارد.

کاربرد سلنیوم می‌تواند باعث افزایش میزان فتوسنتز گیاهان مخصوصاً تحت تنش‌های مختلف شود (۱۱). در واقع یکی از مهمترین عوامل موثر بر میزان تجمع نیترات در گیاهان میزان فتوسنتز است. تجمع نیترات در گیاهان ارتباط مستقیمی با میزان کربوهیدرات‌های گیاه دارد که در طی فرایند فتوسنتز تولید می‌شود (۲). از آنجا که این محصولات می‌توانند کربن و انرژی مورد نیاز برای کاهش میزان نیترات را در گیاه فراهم کنند (۲)، بنابراین فرض بر این است که علاوه بر القای فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم نیتروژن، کاربرد سلنیوم از طریق حفظ ظرفیت فتوسنتزی و تنظیم جذب و انتقال نیترات به طور مثبتی باعث کاهش نیترات در گیاه می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی تاثیر کاربرد سلنیوم بر تجمع نیترات، فعالیت آنزیم‌های آسیمیلاسیون نیتروژن و میزان فتوسنتز در اسفناج و کاهو در شرایط هیدروپونیک بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در محیط کنترل شده گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان اجرا گردید. بذور کاهو رقم گریت لیک و

اسفناج رقم سیریوس را به منظور جوانه زنی در ظروف پتری در دمای آزمایشگاه قرار داده و پس از جوانه زنی، گیاهچه‌ها به لیوان‌های پلاستیکی و در مرحله چهار برگی به گلدان‌های بزرگ‌تر که هر دو حاوی پرلیت (مخلوط دانه ریز و درشت) بودند، منتقل شدند. زمانی که گیاهان به حد مناسبی از رشد رسیدند (مرحله چهار برگی)، به سیستم فلوتینگ انتقال یافتند. در این سیستم ریشه‌های گیاهان در محلول غذایی شناور بوده و بستر کشتی استفاده نمی‌شود. محلول غذایی تغییر یافته هوگلدن تهیه و به مقدار ۸ لیتر به هر ظرف اضافه شد. محلول غذایی هوگلدن تغییر یافته شامل ترکیبات تشکیل دهنده زیر (بر اساس میلی گرم در لیتر) بود: نیتروژن (۲۲۴)، پتاسیم (۲۳۵)، کلسیم (۱۶۰)، فسفر (۱۶۰)، گوگرد (۳۲)، منیزیم (۲۴)، فسفر (۶۲)، کلر (۱۷۷)، بور (۰/۲۷)، منگنز (۰/۱۱)، روی (۰/۱۳)، مس (۰/۰۳)، مولیبدن (۰/۰۵)، آهن (۱).

پس از ظاهر شدن ریشه‌های جدید در محلول غذایی، تیماردهی انجام گرفت و سلنیوم با غلظت مورد نظر به گلدان‌های حاوی محلول غذایی افزوده شد. تیمار سلنیوم با استفاده از نمک سلنات سدیم (Na_2SeO_4) (مرک، آلمان) به جرم مولکولی ۱۸۹ گرم تهیه شد. تیمارها بر اساس میکرومول در لیتر محاسبه شدند که شامل صفر، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۵۰ میکرومول در لیتر بود که محلول سلنیوم با غلظت بالا به صورت محلول پایه تهیه و به محلول‌های غذایی جهت به دست آمدن غلظت مورد نظر اضافه و روزانه با اضافه نمودن محلول غذایی تازه، کاهش محلول داخل ظرف به صورت مشاهده‌ای جبران گردید. در واقع غلظت صفر سلنیوم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. دما و رطوبت گلخانه در طول مدت آزمایش 26 ± 4 درجه سلسیوس و ۷۰ درصد رطوبت نسبی حفظ گردید. pH محلول غذایی با افزودن ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر در لیتر اسید فسفریک و ۰/۰۶۲ میلی‌لیتر در لیتر اسید نیتریک، در محدوده ۶/۵-۴/۴ تنظیم شد. هدایت الکتریکی (EC) محلول نیز در محدوده ۲-۲/۴ میلی موس بر سانتی متر تنظیم شد. هدایت الکتریکی و pH محلول‌های غذایی به صورت هفتگی کنترل می‌شد و با توجه به شدت نور، محلول غذایی حداکثر تا یک هفته تعویض کامل می‌شد. برای تهیه محلول غذایی از پمپ‌های هوا استفاده گردید.

برداشت گیاهان و اندازه گیری عملکرد

بعد از چهل روز از تیماردهی، گیاهان برداشت شدند. صفات ریخت شناسی مورد بررسی در این آزمایش وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی بود. وزن خشک ریشه و اندام هوایی نیز با قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دما ی ۷۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی

نیتريت در محیط واکنش اندازه‌گیری شد. غلظت نیتريت پس از انکوباتور کردن محلول بالا در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه، به روش رنگ‌سنجی و پس از تشکیل کمپلکس آزو با سولفانیل آمید و آن یک نفتیل اتیلن دی آمین دی هیدروکلراید در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز نیز بر مبنای مقدار نیتريت کاسته شده در هر گرم بافت گیاهی تازه در دقیقه بیان شد (۲۰).

اندازه‌گیری آنزیم گلوتامین سنتتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز، ۱/۲ میلی‌لیتر مخلوط بافر تریس-اسید هیدروکلریک ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.6)، آدنوزین دی فسفات ۱ میلی‌مولار، گلوتامین ۵۰ میلی‌مولار، کلرید منیزیم ۲۰ میلی‌مولار، آرسنات سدیم ۲۰ میلی‌مولار، به عصاره آنزیم افزوده و واکنش با اضافه کردن هیدروکسیل آمین ۱۳ میلی‌مولار شروع شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری و سپس ۱/۸ میلی‌لیتر محلول سولفات آهن-اسید سولفوریک و ۰/۱۵ میلی‌لیتر محلول مولیبدات آمونیوم-اسید سولفوریک به عنوان متوقف کننده به آن اضافه شد. به منظور رسوب پروتئین‌های گیاهی، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. مقدار جذب محلول رویی در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۰).

تعیین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز

ابتدا مقدار ۰/۲ گرم از نمونه تازه با یک میلی‌لیتر از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و تراپتون یک درصد همگن شد و به مدت یک ساعت در یخچال نگهداری شد و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سلسیوس با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. محلول صاف رویی جهت تعیین فعالیت آنزیم جداسازی شد. جهت تعیین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز با روش نیکل و کانیگهام، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۳ میلی‌لیتر بافر قرائت حاوی گاباکول ۲۵ میلی‌مولار و آب اکسیژنه ۱۰ میلی‌مولار مخلوط شده و شدت جذب نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر در این محلول توسط دستگاه طیف‌سنج در زمان صفر و ۷۰ ثانیه اندازه‌گیری شد (۲۵).

تجزیه‌های آماری

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. داده‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و رسم نمودارها با توسط نرم‌افزار EXCEL 2007 انجام گرفت. بررسی معنادار بودن داده‌ها با کمک

شاخص سبزینگی برگ با دستگاه کلروفیل‌متر (مدل SPAD-502، شرکت Konica Minolta، ژاپن) اندازه‌گیری و عدد حاصل از میانگین چهار تکرار در هر تیمار، ثبت شد. هدایت روزنه‌ای با دستگاه فتوسنتز متر (مدل LCI-ADC.CO.UK، England) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری نیترات اندام خوراکی گیاه

ابتدا نمونه‌ها خرد شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در دستگاه خشک کن تا رسیدن به وزن ثابت قرار داده شدند. غلظت نیترات در نمونه‌های خشک و آسیاب شده با استفاده از روش دی‌آزو (۳۸) که بر پایه احیای نیترات به نیتريت در مجاورت پودر روی و یون هیدروژن است تعیین شد. به این صورت که یون‌های نیتريت ایجاد شده با نمک سولفانیل آمید تولید ترکیبات دی‌آزوم می‌کنند که در مجاورت آن (۱- نفتیل) اتیلن دی آمین، کمپلکس آمینوآزو ایجاد می‌شود. شدت رنگ کمپلکس رنگی در طول موج ۵۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر مدل Rayleigh UV-1601 اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آسیمیلایسیون نیتروژن

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، تکه‌های تازه نمونه‌ها همراه با محلول عصاره‌گیری با نسبت ۱ به ۵ جرمی - حجمی در دمای صفر درجه سلسیوس توسط آسیاب خرد شدند. محلول عصاره‌گیری شامل محلول فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار بافر شده در pH برابر با ۷/۵ و محتوی ۲ میلی‌مولار EDTA، ۱/۵ درصد کازئین محلول، ۲ میلی‌مولار دی تیوتریتول (DTT) و یک درصد پلی وینیل پلی پیرولیدون (PVP) بود. مخلوط حاصل صاف شده و به مدت ۵ دقیقه و ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول صاف رویی مجدداً به مدت ۲۰ دقیقه و ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی جدا شده و فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز، نیتريت ردوکتاز و گلوتامین سنتتاز در این عصاره اندازه‌گیری شد (۲۰ و ۴۱).

اندازه‌گیری آنزیم نیترات ریداکتاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در برگ به روش پیشنهادی استوارت و همکاران (۴۱) با استفاده از سولانلیک اسید محلول در اسید کلریدریک ۲ نرمال و محلول نفتیل اتیلن دی آمید (۰/۰۲ درصد) و اندازه‌گیری میزان جذب نیتريت در طول موج ۵۴۰ نانومتر، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV-2100 شرکت UNICO) کشور امریکا انجام شد. برای تهیه منحنی استاندارد از نیتريت سدیم استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز

فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز بر اساس میزان کاهش غلظت

آزمون LSD و در سطح $p \leq 0.05$ صورت گرفت.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی

نتایج آنالیز واریانس اثر معنی‌دار تیمار سلیوم بر وزن تر ریشه کاهو، وزن تر اندام هوایی اسفناج، وزن خشک ریشه کاهو، وزن خشک اندام هوایی کاهو، وزن خشک اندام هوایی اسفناج، هدایت

روزنه‌ای کاهو و اسفناج (سطح 0.05) و وزن تر اندام هوایی کاهو، وزن خشک ریشه اسفناج، شاخص کلروفیل کاهو و شاخص کلروفیل اسفناج (سطح 0.01) را نشان می‌دهد (جدول ۱). همچنین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در وزن تر ریشه اسفناج مشاهده نشد.

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس تیمار سلیوم بر وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای کاهو و اسفناج

Table 1- ANOVA for selenium treatment effects on fresh weight of root and shoot, dry weight of root and shoot, chlorophyll index and stomatal conductance in lettuce and spinach

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		وزن تر ریشه کاهو Root fresh weight of lettuce	وزن تر ریشه اسفناج Root fresh weight of spinach	وزن تر اندام هوایی کاهو Shoot fresh weight of lettuce	وزن تر اندام هوایی اسفناج Shoot fresh weight of spinach	وزن خشک ریشه کاهو Root dry weight of lettuce	وزن خشک ریشه اسفناج Root dry weight of spinach
تیمار سلیوم Selenium treatment	5	0.98*	1.88 ^{ns}	2.33**	0.026*	10.8*	1.325**
خطا Error	12	0.53	0.27	0.078	0.052	4.35	0.053
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	8.73	15.36	7.84	21.34	15.57

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)					
		وزن خشک اندام هوایی کاهو Shoot dry weight of lettuce	وزن خشک اندام هوایی اسفناج Shoot dry weight of spinach	شاخص کلروفیل کاهو Chlorophyll index of lettuce	شاخص کلروفیل اسفناج Chlorophyll index of spinach	هدایت روزنه ای کاهو Stomatal conductance of lettuce	هدایت روزنه ای اسفناج Stomatal conductance of spinach
تیمار سلیوم Selenium treatment	5	1.27*	0.11*	96.45**	0.019**	3.96*	11.21*
خطا Error	12	0.036	0.006	14.57	2.73	15.12	2.31
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	9.21	7.47	20.56	17.34	18.25

^{ns}: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

^{ns}: non-significant, **: significant at 1% of probability level, *: significant at 5% of probability level.

تیمارهای ۵۰ و ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد. در مقایسه با شاهد، غلظت‌های بیشتر از ۵ میکرومول بر لیتر تاثیر منفی بر وزن خشک ریشه و اندام هوایی داشت.

تاثیر غلظت‌های مختلف سلیوم بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی اسفناج و کاهو در جدول ۲ نشان داده شده است. در مطالعه حاضر، کمترین و بیشترین میزان بیومس در هر دو گیاه به ترتیب در

جدول ۲- وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در اسفناج و کاهو تحت غلظت‌های مختلف سلنیوم

Table 2- The fresh and dry weight of root and shoot of spinach and lettuce under different concentration of exogenous selenium treatments

غلظت سلنیوم Selenium concentrations ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)		وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (g)	
	کاهو Lettuce		اسفناج Spinach	
0	6.2±0.07ab	6.1±0.32a	174.3±6.3c	144.5±11.2bc
0.1	6.6±0.38ab	5.9±0.56a	178.1±10.7bc	158.2±15.5b
0.5	6.5±0.61ab	6.2±0.49a	189.2±12.2b	165.4±8.5b
5	7.3±0.26a	6.6±0.62a	214.2±10.3a	196.7±14.1a
10	5.9±0.51ab	5.9±0.64a	190.4±15.6b	192.4±7.6a
50	4.9±0.58b	6±0.41a	168.6±13.8d	157.1±9.4b
غلظت سلنیوم Selenium concentrations ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)		وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	
	کاهو Lettuce		اسفناج Spinach	
0	0.34±0.02a	0.35±0.04b	10.12±1.0c	9.97±0.8bc
0.1	0.37±0.03a	0.39±0.05ab	12.01±1.2b	10.95±1.3b
0.5	0.36±0.05a	0.41±0.06ab	11.9±1.3b	11.09±1.1b
5	0.39±0.03a	0.46±0.06a	13.39±1.5a	13.21±1.4a
10	0.29±0.04b	0.33±0.01b	11.86±0.8b	10.89±1.3b
50	0.27±0.01bc	0.3±0.03c	8.39±0.5d	9.22±0.9c

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly differentns ($p \leq 0.05$) based on LSD test.

شد. در اسفناج، وزن خشک ریشه در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر و با شاهد در اسفناج نداشت. بیشترین وزن خشک اندام هوایی در هر دو گیاه اسفناج و کاهو، در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد و با افزایش غلظت، وزن خشک اندام هوایی شروع به کاهش نمود (جدول ۱).

بررسی‌های قبلی در گیاهان لوبیا (۱۸)، کاهو (۲۳)، خیار (۱۹) و فلفل (۳۶) نشان داده که غلظت‌های کم سلنیوم موجب افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان شده ولی با افزایش غلظت سلنیوم این صفات کاهش یافتند. همچنین تیمار سلنیوم با غلظت‌های بین ۵۰-۵ میکرومول بر لیتر باعث افزایش ۴۴ درصدی رشد ذرت شد (۱۷). همچنین تأثیر مثبت غلظت‌های بیشتر سلنیوم (۱۰۰-۵۰ ماکرو مول بر لیتر) بر ارتفاع و وزن خشک کلم بروکلی بوسیله تکدا و همکاران (۴۲) نشان داده شده است.

کاهش پروتئین و بیومس گیاه که در اثر افزایش غلظت سلنیوم در گیاهان مختلف گزارش شده است به دلیل کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی است (۷). در مقابل غلظت‌های کم سلنیوم، احتمالاً از طریق افزایش میزان کلروفیل و متعاقب آن فتوسنتز و تثبیت کربن و در نتیجه تجمع نشاسته در کلروپلاست‌ها، رشد گیاه را افزایش داده و به دلیل آنتی‌اکسیدان بودن از غشا سلولی این گیاهان در برابر پراکسیداسیون لیپیدها محافظت می‌کند (۱۴). جاهید و همکاران (۱۸)

با افزایش غلظت سلنیوم، وزن تر اندام هوایی در هر دو گیاه ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. بیشترین وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاه در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر و کمترین مقدار آن در غلظت ۵۰ میکرومول بر لیتر مشاهده شد (جدول ۱). سطوح مختلف سلنیوم تأثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه در اسفناج نداشت، اما در کاهو، در سطح ۵۰ میکرومول بر لیتر، وزن تر ریشه نسبت به سطح ۵ میکرومول بر لیتر کاهش معنی‌داری نشان داد.

کاهش وزن تر گیاه با افزایش غلظت سلنیوم در مطالعات قبلی نیز تایید شده است (۲۲). احتمالاً برهمکنش سلنات با پلاسما و تغییر در نفوذپذیری غشا نسبت به برخی یون‌ها (پتاسیم، سدیم و کلسیم) بر طول شدن گیاه، تنفس، جذب آب و تخلیه از آوندهای آبکش تأثیرگذار است. همچنین سلنیوم با تشکیل اسیدهای آمینه سلنیوم‌دار، موجب افزایش تولید اتیلن و در نتیجه تغییر ترکیب لیپیدهای غشایی، افزایش نفوذپذیری غشا و نشت پتاسیم می‌شود که نتیجه آن افزایش آب در فضای بین سلولی و افزایش وزن تر بافت است (۱۰). صفاری‌زدی و همکاران (۳۱) دریافتند که تأثیر مثبت سلنیوم بر وزن تر گیاه اسفناج بدلیل تأثیر این عنصر بر سنتز کلروفیل، تثبیت کربن، سنتز و هیدرولیز نشاسته و تحریک تقسیم سلولی است. کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در وزن خشک ریشه بین غلظت ۵۰ و ۵ میکرومول در لیتر، در هر دو گیاه مشاهده

کلروپلاستی را سولفولیبیدها تشکیل می‌دهند. احتمالاً جانشینی یون سلیوم به جای گوگرد در ساختار این لیپیدها موجب تغییر ساختمان و عمل این ترکیبات شده، سنتز غشاهای تیلاکوئیدی و در نتیجه فتوسنتز را مهار می‌کند.

هاورلیک و همکاران (۱۶) گزارش کردند که کاربرد سلیوم باعث افزایش محتوای کلروفیل و همچنین کارتنوئید در کاهو می‌گردد. شارما و همکاران (۳۵) نیز گزارش کردند که تجمع سلیوم در برگ منجر به افزایش معنی‌دار در کلروفیل می‌گردد. همچنین، میزان بالای کلروفیل در اسفناج و گوجه فرنگی که با ۵ میکرومول سلیوم تیمار شده بود مشاهده گردید (۱۶). همچنین کاربرد ۰/۵ میلی گرم در کیلوگرم سلیوم در محلول غذایی کاهو، در جلوگیری از تخریب کلروفیل موثر است ولی کاربرد غلظت‌های بالای سلیوم (۴۰ میلی گرم در لیتر) موجب کاهش در محتوای کلروفیل در کاهو می‌گردد (۲۴).

غلظت نیترات

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که غلظت نیترات کاهو، فعالیت آنزیم نیتريت ريداکتاز و فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز (سطح ۰/۰۱) و غلظت نیترات اسفناج، فعالیت آنزیم نیتريت ريداکتاز کاهو و اسفناج، فعالیت آنزیم نیتريت ريداکتاز اسفناج، فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز اسفناج و فعالیت آنزیم گلوتامین پراکسیداز کاهو و اسفناج (سطح ۰/۰۵) در تیمارهای مختلف کودی سلیوم دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر بودند (جدول ۴).

غلظت نیترات در برگ‌های هر دو گیاه با افزایش غلظت سلیوم ابتدا کاهش و سپس افزایش معنی‌داری را نشان داد. سطح ۵۰ میکرومول بر لیتر سلیوم بالاترین میزان غلظت نیترات را در برگ‌های کاهو و غلظت صفر (تیمار شاهد) بیشترین غلظت نیترات را در اسفناج نشان داد. در هر دو گیاه، کاهش معنی‌دار غلظت نیترات در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد (شکل ۱). تقریباً در تمام تیمارها، غلظت نیترات در اسفناج بیشتر از کاهو بود. لی و همکاران (۲۲) نشان دادند که سلیوم باعث کاهش انتقال نیترات از ریشه‌ها به برگ‌های کاهو شده و در نتیجه باعث کاهش تجمع نیترات در برگ‌های این گیاه می‌شود. مالورگیو و همکاران (۲۴) گزارش کردند که در کاهو کاربرد سلیوم در محلول غذایی منجر به افزایش غلظت نیترات برگ در گیاهان پرورش یافته در پاییز و زمستان گردید ولی کاربرد سلیوم در غلظت‌های بالا موجب کاهش در غلظت نیترات گردید.

نشان دادند که احتمالاً سلیوم با فراتانتزیمی آنزیم‌های دخیل در سنتز و هیدرولیز ساکارز (اینورتاز، ساکارز سنتتاز و ساکارز فسفات سنتتاز) و آنزیم‌های هیدرولیز کننده نشاسته (آمیلازها) میزان تولید نشاسته و ساکارز را افزایش داده، از این طریق سوبستراهای لازم برای رشد و افزایش بیومس گیاه را فراهم می‌کنند.

اثر سلیوم بر ویژگی‌های فتوسنتزی

تأثیر غلظت‌های مختلف سلیوم بر پارامترهای فتوسنتزی کاهو و اسفناج در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تأثیر سلیوم بر پارامترهای فتوسنتزی کاملاً به غلظت وابسته است. مقایسه میانگین مشاهدات نشان داد که با افزایش غلظت سلیوم، میزان کلروفیل، هدایت روزنه‌ای برگ‌ها ابتدا افزایش و سپس در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر شروع به کاهش کرد (جدول ۳). در اسفناج تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد در میزان کلروفیل و هدایت روزنه‌ای بین غلظت ۱۰ و ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده نشد. اما در کاهو این تفاوت معنی‌دار بود. به طور کلی میزان کلروفیل در کاهو در تمام تیمارها بیشتر از اسفناج بود. بهترین غلظت در مورد ظرفیت فتوسنتزی در هر دو گیاه ۵ میکرومول بر لیتر بود که خود این موضوع می‌تواند تغییرات مشابه در وزن خشک ریشه و اندام هوایی را در تیمارهای مختلف توضیح دهد.

بررسی‌های انجام شده در زمینه تأثیر سلیوم بر مقدار کلروفیل در گیاهانی مانند اسفناج (۳۵)، خردل (۳۹) و چای (۳۴) نیز موید نتایج ذکر شده است. سلیوم در غلظت‌های کم با محافظت از آنزیم‌های کلروپلاستی، بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی را افزایش می‌دهد. اما با افزایش غلظت سلیوم، این عنصر، آنزیم‌های بیوسنتز کننده کلروفیل (مانند پورفوبیلینوئن سنتتاز) را مهار کرده، با گروه سولفیدریل موجود در آنزیم‌های ۵-آمینولوولینیک اسید دهیدراتاز^۱ و دامیناز پورفوبیلیجن^۲ بر هم کش می‌کند و از این طریق تأثیر منفی بر سنتز کلروفیل می‌گذارد (۱۶).

جرم و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که سطوح بالای سلیوم تأثیری بر فتوسیستم II نداشته و احتمالاً از مسیر دیگری موجب کاهش میزان فتوسنتز می‌شود، اما غلظت‌های کم سلیوم راندمان فتوشیمیایی فتوسیستم II را افزایش می‌دهد (۱۳). همچنین غلظت‌های بالای سلیوم در کلرلا، با تأثیر بر نفوذپذیری غشا و فراساختار کلروپلاست، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (۷). احتمالاً جانشین شدن سلیوم در غلظت‌های زیاد به جای منیزیم موجود در ساختار کلروفیل نیز یکی از مکانیسم‌های آسیب به کلروفیل می‌باشد (۲۷). حدود یک درصد از غشاهای

1- 5-acid-dehydratase

2- Deaminase porfobilinogen

جدول ۳- شاخص کلروفیل و هدایت روزنه‌ای در اسفناج و کاهو تحت غلظت‌های مختلف سلیوم

Table 3- The chlorophyll Index and stomatal conductance under different concentration of exogenous selenium

غلظت سلیوم Selenium concentrations ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	شاخص سبزی‌نگی SPAD		هدایت روزنه‌ای Stomatal conductance ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	
	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach	کاهو Lettuce	اسفناج Spinach
0	12.97±1.27d	11.88±1.4d	0.09±0.01e	0.07±0.00d
0.1	17.1±1.35c	14.16±1.13c	0.15±0.02b	0.11±0.02c
0.5	17.33±1.13c	16.12±1.29b	0.13±0.01c	0.15±0.01b
5	24.53±1.15a	21.1±1.16	0.2±0.03a	0.18±0.03a
10	20.9±1.41b	19.94±1.7a	0.16±0.02b	0.16±0.01ab
50	16.33±1.3cd	14.92±1.2bc	0.11±0.01d	0.08±0.01d

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بر اساس آزمون LSD نمی‌باشند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different based on LSD test ($p \leq 0.05$).

جدول ۴- تجزیه واریانس تیمار سلیوم بر غلظت نیترات، فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز، فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز، فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز و فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز کاهو و اسفناج

Table 4- ANOVA for selenium treatment on nitrate concentration, nitrate reductase activity, nitrite reductase activity, on glutamine synthetase activity and glutathione peroxidase activity in lettuce and spinach

منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		غلظت نیترات کاهو Nitrate concentration of lettuce	غلظت نیترات اسفناج Nitrate concentration of spinach	فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز کاهو Nitrate reductase activity of lettuce	فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز اسفناج Nitrate reductase activity of spinach	فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز کاهو Nitrite reductase activity of lettuce
تیمار سلیوم Selenium treatment	5	142.98**	74.5*	282.12*	210.52*	14.8**
خطا Error	12	0.53	7.8	32.11	74.06	4.35
ضریب تغییرات CV (%)	-	9.21	12.32	4.74	16.1	21.34

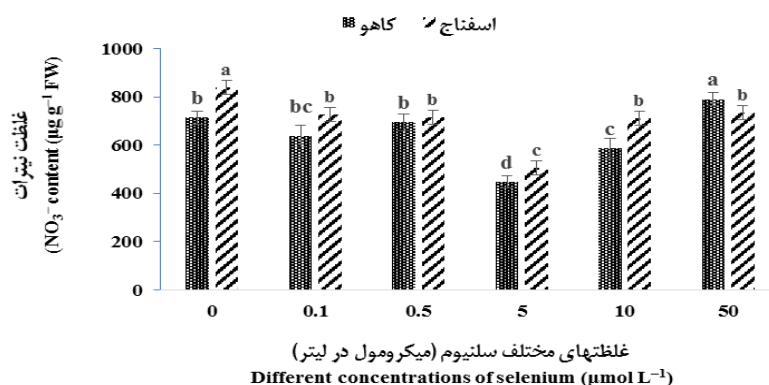
منابع تغییرات SOV	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)				
		فعالیت آنزیم نیتريت ریداکتاز اسفناج Nitrite reductase activity of spinach	فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز کاهو Glutamine synthetase activity of lettuce	فعالیت آنزیم گلوکاتیون سنتتاز اسفناج Glutamine synthetase activity of spinach	فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز کاهو Glutathione peroxidase activity of lettuce	فعالیت آنزیم گلوکاتیون پراکسیداز اسفناج Glutathione peroxidase activity of spinach
تیمار سلیوم Selenium treatment	5	1.93*	0.005**	8.65*	4.96*	37.56*
خطا Error	12	12.41	0.022	0.017	0.019	3.96
ضریب تغییرات CV (%)	-	6.47	4.66	23.57	2.73	15.12

ns: عدم معنی‌داری، **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

ns: non-significant, **: significant at 1% of probability level, *: significant at 5% of probability level.

و اثر آنتاگونیستی بین دو آنیون باشد. دلیل دوم می‌تواند القاء آسمیلاسیون نیترات توسط افزایش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز باشد (۲۹).

کاهش غلظت نیترات در برگ پیاز پس از کاربرد سelenium با مطالعات انجام شده توسط ریوس و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه کاهو و اسفناج مطابقت دارد. کاهش غلظت نیترات پس از کاربرد سelenium ممکن است به دو دلیل باشد. نخست، اثر منفی سelenium بر ناقلین غشا



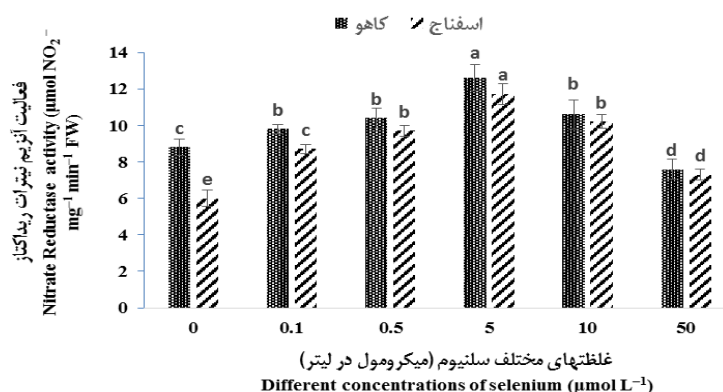
شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف سelenium بر غلظت نیترات در اسفناج و کاهو

Figure 1- Effect of different concentrations of selenium on nitrate content in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

ریداکتاز در کاهو و اسفناج، به ترتیب متعلق به تیمار ۵۰ میکرومول بر لیتر و صفر (شاهد) بود. اما به طور کلی در تمام تیمارها، فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در کاهو بیشتر از اسفناج بود. مطالعات قبلی هم گزارش کردند که کاربرد سelenium با تحریک و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز باعث کاهش تجمع نیترات در جو (۱) و آفتابگردان (۳۰) می‌شود.

فعالیت آنزیم نیترات ریدوکتاز، نیتريت ریداکتاز و گلوتامین سنتتاز

کاهش نیترات به نیتريت اولين قدم در متابولیسم نیترات است که بوسیله آنزیم نیترات ریداکتاز کاتالیز می‌شود. در هر دو گیاه، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در سطح ۵ درصد در تیمار ۵ میکرومول بر لیتر مشاهده شد (شکل ۲). کمترین فعالیت آنزیم نیترات



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف سelenium بر فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز اسفناج و کاهو

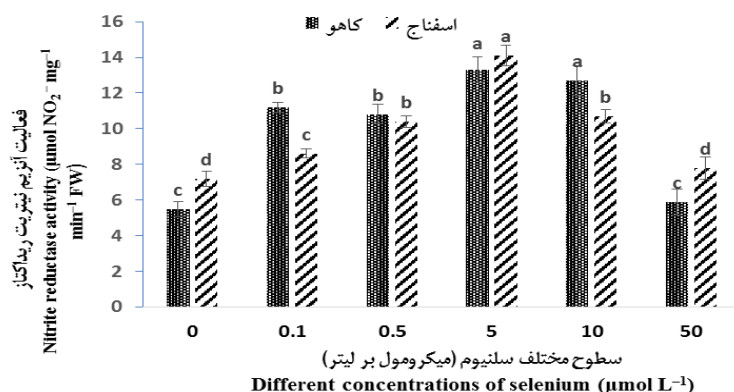
Figure 2- The effect of different concentrations of selenium on nitrate reductase activity in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

اولین مرحله از مسیر متابولیسمی آسمیلاسیون نیترات در گیاهان است که با کمک این آنزیم انجام می‌گردد. در واقع سelenium با کاهش فعالیت ناقلین نیترات و افزایش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز منجر به کاهش میزان نیترات برگ می‌شود (۲۹). سelenium می‌تواند جذب برخی از

یکی از فاکتورهای اولیه تنظیم فعالیت نیترات ریداکتاز، میزان نیترات است. حضور نیترات میزان mRNA نیترات ریداکتاز را افزایش داده و باعث تحریک سنتز این آنزیم می‌شود. نیترات در سیتوزول سلول‌ها از طریق آنزیم نیترات ریداکتاز به نیتريت تبدیل می‌شود و

غلظت‌های زیاد ممکن است در آسیمیلاسیون نیتروژن تداخل ایجاد کند (۱۵).

عناصر ریزمغذی مثل مولیبدن را که به عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم نیترات ریداکتاز عمل می‌کند را تغییر دهد. بنابراین، سلیوم در



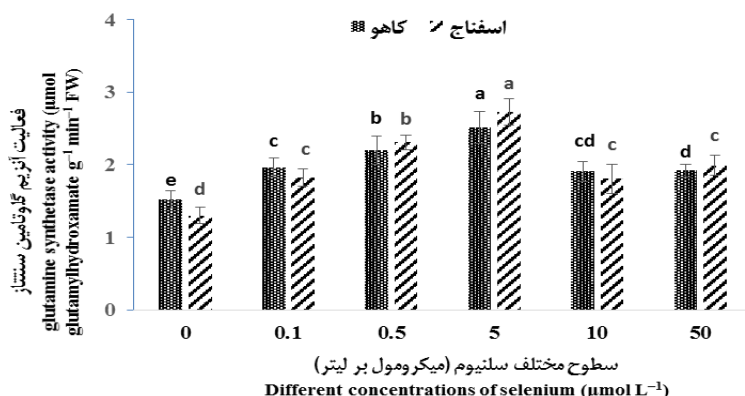
شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف سلیوم بر فعالیت آنزیم نیتريت ريداکتاز اسفناج و کاهو

Figure 3- The effect of different concentrations of selenium on nitrite reductase activity in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

افزایش غلظت سلیوم روند افزایشی داشته بطوری که بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلیوم مشاهده شد. اما با افزایش غلظت (غلظت بیشتر از ۵ میکرومول بر لیتر)، فعالیت این آنزیم شروع به کاهش نمود. (شکل ۴). فعالیت این آنزیم در تمام تیمارها در هر دو گیاه بیشتر از شاهد بود. به طور کلی در این مطالعه، غلظت‌های بیشتر از ۵ میکرومول بر لیتر باعث کاهش معنی‌دار فعالیت هر سه آنزیم نیترات ریداکتاز، نیتريت ريداکتاز و گلوتامین سنتتاز در سطح احتمال ۵ درصد شد. با این حال، ریوس و همکاران (۲۹) گزارش کردند که سلیوم حتی در غلظت ۱۲۰ میکرومول بر لیتر به طور معنی‌داری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های نیتريت ريداکتاز و گلوتامین سنتتاز شد. این داده‌ها نشان می‌دهد که کاربرد سلیوم می‌تواند فعالیت آنزیم‌های دخیل در کاهش و احیای نیتروژن را تعدیل کرده و این عملکرد بستگی به غلظت به کار رفته دارد.

واکنش آنزیم نیتريت ريداکتاز به کاربرد سلیوم مشابه آنزیم نیترات ريداکتاز بود. بطوری که بیشترین فعالیت این آنزیم در هر دو گیاه، در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلیوم مشاهده شد (شکل ۳). آسیمیلاسیون نیترات در برگ‌ها تابع عملکرد نیتريت و آنزیم نیتريت ريداکتاز برای تولید آمونیوم و سپس جذب آن از طریق مسیر آنزیم‌های گلوتامین سنتتاز و گلوتامات سنتتاز است. عملکرد این مسیر بستگی به تولید گلوتامات دارد که منبع کربن و انرژی در بیوسنتز اکثر اسیدهای آمینه است (۱۲). آسیمیلاسیون نیترات علاوه بر اینکه با فعالیت آنزیم نیترات ريداکتاز تنظیم می‌شود، تحت تاثیر متابولیت‌هایی مثل نیتريت و آمونیوم است. بنابراین آسیمیلاسیون نیترات بطور غیر مستقیم تحت تاثیر فعالیت آنزیم‌های نیتريت ريداکتاز و گلوتامین سنتتاز نیز هست (۱۲).

فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز در هر دو گیاه اسفناج و کاهو با



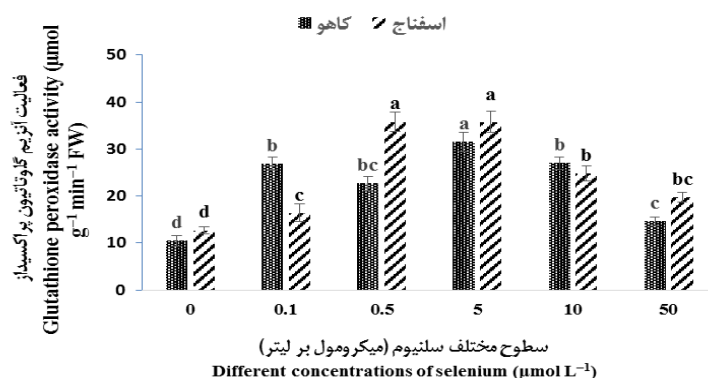
شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف سلیوم بر فعالیت آنزیم گلوتامین سنتتاز در اسفناج و کاهو

Figure 4- The effect of different concentrations of selenium on glutamine synthetase activity in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز

سایر تیمارها در کاهو مشاهده شد. اما در اسفناج تفاوت معنی داری در سطح ۵ درصد در فعالیت این آنزیم در غلظت‌های ۵ و ۰/۵ میکرومول بر لیتر مشاهده نشد (شکل ۵).

افزایش معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در غلظت ۵ میکرومول بر لیتر سلیوم نسبت به



شکل ۵- تاثیر غلظت‌های مختلف سلیوم بر فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز اسفناج و کاهو

Figure 5- The effect of different concentrations of selenium on glutathione peroxidase activity in spinach and lettuce (LSD, $p \leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که غلظت‌های مختلف سلیوم، تاثیر معنی داری بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و تجمع نیترات در کاهو و اسفناج داشت. نتایج نشان داد که تاثیر سلیوم بر ظرفیت فتوسنتزی و رشد گیاه کاهو و اسفناج وابسته به غلظت بود و غلظت بهینه ۵ میکرومول بر لیتر بود. کاربرد سلیوم بدلیل تحریک آسمیلاسیون نیترات باعث کاهش تجمع نیترات در هر دو گیاه شد. همچنین سلیوم در غلظت بهینه باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های نیترات ریداکتاز، نیتريت ریداکتاز و گلوتامین سنتتاز و بنابراین تحریک آسمیلاسیون نیترات و کاهش تجمع نیترات شد. بنابراین استفاده از سلیوم (۵ میکرومولار در لیتر) باعث کاهش نیترات و افزایش کیفیت و عملکرد کاهو و اسفناج در شرایط هیدروپونیک می‌شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان به علت کمک در انجام آنالیزهای تحقیق حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

هرچند سمیت سلیوم در غلظت‌های بالا برای گیاهان کاملاً محرز بوده و نوعی تنش محسوب می‌گردد ولی اثرات سودمند غلظت‌های پایین سلیوم در حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی، گونه‌های فعال اکسیژن و فعال سازی مکانیسم‌های کاهنده تنش‌های اکسیداتیو در پژوهش‌های متفاوتی گزارش شده است (۳۳). افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها در اثر استفاده از سلیوم به کاهش پراکسیداسیون چربی‌ها و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز مرتبط دانسته شده است (۴۴). هر چند هنوز سلیوم در ساختار آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز گیاهی یافت نشده ولی اعتقاد بر این است که سلیوم موجب افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود. در بعضی موارد کاهش میزان سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان تیمار شده با سلیوم گزارش شده است که می‌تواند به علت افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز باشد. بدین معنی که با افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز نیاز به سایر آنزیم‌ها و مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی برای حذف رادیکال‌های آزاد کم می‌شود (۴۴).

جنگیرامن و همکاران (۸) نشان دادند که سلیوم باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. علاوه بر این، تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که سلیوم نقش حفاظتی در برابر تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان عالی از طریق افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها دارد (۴). افزودن غلظت کم سلیوم، تنش اکسیداتیو را در کاهو و چچم (۴۴) کاهش داد.

- 1- Aslam M., Harbit K.B., and Huffaker R. 1990. Comparative effects of selenium and selenate on nitrate assimilation in barley seedlings. *Plant, Cell and Environment* 13: 773–782.
- 2- Bian Z.H., Cheng R.F., Yang Q.C., Wang J., and Lu C.G. 2016. Continuous light from red, blue, and green light-emitting diodes reduces nitrate content and enhances phytochemical concentrations and antioxidant capacity in lettuce. *Journal of American Society for Horticultural Science* 141: 186–195.
- 3- Bian Z.H., Lei B., Cheng R.F., Wang Yu., Li T., and Yang Q.C. 2020. Selenium distribution and nitrate metabolism in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.): Effects of selenium forms and light spectra. *Journal of Integrative Agriculture* 19: 133–144.
- 4- Cartes P., Gianfreda L., and Mora M.L. 2005. Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenite and selenium forms. *Plant and Soil* 276: 359–367.
- 5- Champigny M.L. 1995. Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants. *Photosynthesis Research* 46: 117–127.
- 6- Chen B.M., Wang Z.H., Li S.X., Wang G.X., Song H.X., and Wang X.N. 2004. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrate accumulation, metabolic nitrate concentration and nitrate reductase activity in three leafy vegetables. *Plant Science* 167: 635–643.
- 7- Chen T.F., Zheng W.J., Luo Y., Yang F., Bai Y., and Tu F. 2005. Effects of selenium stress on photosynthetic pigment contents and growth of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology* 31: 369–373.
- 8- Djanaguiraman M., Devi D.D., Shanker A.K., Sheeba A., and Bangarusamy U. 2005. Selenium an antioxidative protectant in soybean during senescence. *Plant and Soil* 272: 77–86.
- 9- Dordas C.A., and Sioulas C. 2008. Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. *Industrial Crops and Products*, 27: 75–85.
- 10- Dziubinskaa H., Filekb M., Krol E., and Trebacz K. 2010. Cadmium and selenium modulate slow vacuolar channels in rape (*Brassica napus*) vacuoles. *Journal of Plant Physiology* 167: 1566–1570.
- 11- Feng R., Wei C., and Tu S. 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany* 87: 58–68.
- 12- Forde B.G., and Lea P.J., 2007. Glutamate in plants: Metabolism, regulation, and signaling. *Journal of Experimental Botany* 58: 2339–2358.
- 13- Germ M., Stibilj V., and Kreft I. 2007. Metabolic importance of selenium for plants. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology* 1: 91–97.
- 14- Han-Wens S., Jing H., and Wei-Jun K. 2010. Protective role of selenium on garlic growth under cadmium stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 41: 1195–1204.
- 15- Harris J., Schneberg K.A., and Pilon-Smits E.A. 2014. Sulfur-selenium-molybdenum interactions distinguish selenium hyperaccumulator *Stanleya pinnata* from non-hyperaccumulator *Brassica juncea* (*Brassicaceae*). *Planta* 239: 479–491.
- 16- Hawrylak B., Matraszek R., and Szynanska M. 2007. Response of lettuce (*Lactuca sativa* L.) to selenium in nutrient solution contaminated with nickel. *Vegetable Crops Research Bulletin* 67: 63–70.
- 17- Hawrylak-Nowak B. 2008. Changes in anthocyanin content as indicator of maize sensitivity to selenium. *Journal of Plant Nutrition* 31: 1232–1242.
- 18- Jahid A.M., Kumar S., Thakur P., Sharma S., Kau Raman Preet N., Kaur D.P., Bhandhari K., Kaushal N., Singh K., Srivastav A., and Nayyar H. 2010. Promotion of growth in mungbean (*Phaseolus aureus* Roxb.) by selenium is associated with stimulation of carbohydrate metabolism. *Biological Trace Element Research* 143: 530–539.
- 19- Jozwiak W., Mleczek M., and Politycka B. 2016. The effect of exogenous selenium on the growth and photosynthetic pigments of cucumber seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin* 25: 142–152.
- 20- Kaiser J.J., and Lewis O.A.M. 1984. Nitrate reductase and glutamine synthetase activity in leaves and roots of nitrate-fed *Helianthus annuus* L. *Plant and Soil* 70: 127–130.
- 21- Kieliszek M., and Blazejak S. 2013. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition* 29: 713–718.
- 22- Lei B., Bian Z.H., Yang Q.C., Wang J., LI Kun1, Liu W., Zhang Y., Fang H., and Tong Y. 2018. The positive function of selenium supplementation on reducing nitrate accumulation in hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Journal of Integrative Agriculture* 17: 837–846.
- 23- Liu D.D., Li H., Wang Y.Z., Bian Z.W., Zhu W.L., Liu W., Yang L.F., and Jiang D.H. 2017. How exogenous selenium affects anthocyanin accumulation and biosynthesis-related gene expression in purple lettuce. *Polish Journal of Environmental Studies* 26: 717–722.
- 24- Malorgio F., Diaz k., and Ferrante A. 2009. Effects of selenium addition on minimally processed leafy vegetables grown in a floating system. *Journal Science Food and Agriculture*, 89: 2243–2251.
- 25- Nickel R.S., and Cunningham B.A. 1969. Improved peroxidase assay method using Ieuco 2,3,6-

- trichloroindophenol and application to comparative measurements of peroxidase catalysis. *Annals of Biomedical Engineering* 27: 292-299.
- 26- Nowak J., Kaklewski K., and Ligocki M. 2004. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plants. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1553-1558.
 - 27- Padmaja K., Prasad D.D.K., and Prasad A.R.K. 1989. Effect of selenium on chlorophyll biosynthesis in mung bean seedlings. *Phytochemistry* 28: 3321-3324.
 - 28- Rani N., Dhillon K.S., and Dhillon S K. 2005. Critical levels of selenium in different crops grown in an alkaline silty loam soil treated with selenium-Se. *Plant Soil*, 277, 367-374.
 - 29- Rios J.J., Blasco B., Rosales M.A., Leyva R., Cervilla L.M., Romero. L., and Ruiz J M. 2010. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. *Journal of American Society for Horticultural Science* 90: 1914-1919.
 - 30- Ruiz J.M., Rivero R.M., and Romero L. 2007. Comparative effect of Al, Se, and Mo toxicity on NO_3^- assimilation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Journal of Environmental Management* 83: 207-212.
 - 31- Saffaryazdi A., Lahouti M., Ganjeali A., and Bayat H. 2012. Impact of selenium supplementation on growth and selenium accumulation on spinach (*Spinacia oleracea* L.) Plants. *Natulae Scientia Biologicae* 4: 95-100.
 - 32- Santamaria P. 2006. Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 10-17.
 - 33- Seppanen M., Turakainen M., and Hartikainen H. 2003. Selenium effects on oxidative stress in potato. *Plant Science*, 165: 311-319.
 - 34- Schiavon M., Acqua S.D., Mietto A., Pilon-Smits E.A.H., Sambo P., Masi A., and Malagoli M. 2013. Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61: 10542-10554.
 - 35- Sharma S., Bansal A., Dhillon S.K., and Dhillon, K.S. 2010. Comparative effects of selenate and selenite on growth and biochemical composition of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Soil* 329: 339-348.
 - 36- Shekari L., Kamelmannesh M.M., Mozafariyan M., Hasanuzzaman M., and Sadeghi F. 2017. Role of selenium in mitigation of cadmium toxicity in pepper grown in hydroponic condition. *Journal of Plant Nutrition* 40: 761-772.
 - 37- Schwarz K., and Foltz C.M. 1957. Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary degeneration. *Journal of the American Chemical Society* 79: 3292-3293.
 - 38- Singh J.P. 1988. A rapid method for determination of nitrate in soil and plant extract. *Plant and Soil* 11: 137-139.
 - 39- Smolen S., and Sady W. 2009. The effect of various nitrogen fertilization and foliar nutrition regimes on the concentrations of sugars, carotenoids and phenolic compounds in carrot (*Daucus carota* L.). *Scientia Horticulturae* 120: 315-324.
 - 40- Sun H.Y., Wang X.Y, Dai H.X, andWu F.B. 2013. Effect of exogenous glutathione and selenium on cadmiuminduced changes in cadmium and mineral concentrations and antioxidative metabolism in maize seedlings. *Asian Journal of Chemistry*, 25, 2970-2975.
 - 41- Stewart G.R., Lee, J.A., and Orebamjo, T.O. 1972. Nitrogen metabolism of halophyte: Nitrate reductase activity and utilization. *New Phytologist* 72: 539-546.
 - 42- Takeda T., Kondo K., Ueda K., and Iida A. 2016. Antioxidant responses of selenium-enriched broccoli sprout (*Brassica oleracea*) to paraquat exposure. *Biomedical Research on Trace Elements* 27: 8-14.
 - 43- Wu L., and Huang Z.Z. 1991. Chloride and sulfate salinity effects on selenium accumulation by Tall Fescue. *Crop Science Society of American* 31: 114-118.
 - 44- Xue T., Hartikainen H., and Piironen V. 2001. Antioxidative and growth promoting effect of selenium in senescing lettuce. *Plant Soil* 237: 55-61.



The Positive Effect of Selenium on Nitrate Accumulation in Spinach (*Spinacia oleracea* L.) and Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

M. Jalali^{1*} - N. Salehi Chegeni²

Received: 15-04-2020

Accepted: 09-06-2020

Introduction: High nitrate (NO_3^-) in vegetables, especially in leafy vegetables poses threaten to human health. Selenium (Se) is an important element for maintaining human health, and exogenous Se application during vegetable and crop production is an effective way to prevent Se deficiency in human bodies. Exogenous Se shows a positive function on plant growth and nutrition uptake under abiotic and biotic stresses. However, the influence of exogenous Se on NO_3^- accumulation in hydroponic leafy vegetables is still not clear.

Materials and Methods: The present study was conducted in a completely randomized design with four replications at Research Greenhouse of Lorestan University. In this study, hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L. var. Grin leek) and spinach (*Spinacia oleracea* L. var. Sirius) plants were subjected to six different concentrations (0, 0.1, 0.5, 5, 10 and 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) of Se as Na_2SeO_3 . Zero concentration was considered as control. The modified Hoagland nutrient solution were prepared and 8 liters was added to each pot. The nutrient solutions were replaced with fresh solution every five days throughout this experiment. After the emergence of new roots in the nutrient solution, treatment was applied and selenium was added to the pots at a specific concentration. After Se treatment for 40 days, three plants were randomly harvested from each treatment. The effects of Se on plant growth, NO_3^- content, activities of nitrogen metabolism enzymes, photosynthetic capacity and glutathione peroxidase enzyme activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) were investigated. The second youngest, fully expanded leaf was used to monitor photosynthetic capacity using chlorophyll meter and portable photosynthetic apparatus, respectively. Nitrate concentration in dried samples was determined based on nitrate to nitrite reductions in the vicinity of zinc powder and hydrogen ion. Data preparation was done in the Excel program and data analysis was done using SPSS 16 software. The means comparison of the treatments was done by LSD test and finally, the figures were drawn using MS Excel.

Results and Discussion: The results showed that the lowest and highest biomass in both plants were observed in 50 and 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Se treatments, respectively. Different levels of selenium had no significant effect on root fresh weight in spinach. However, in the lettuce, at 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, the root fresh weight significantly decreased compared to the 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Moreover, exogenous Se positively decreased NO_3^- content and this effect was concentration-dependent. The lowest NO_3^- content was obtained under 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ Se treatment. NO_3^- content in lettuce was lower than that of spinach in all treatments. The application of Se enhanced photosynthetic capacity by increasing the stomatal conductance, photosynthesis rate and chlorophyll content of plants. No significant difference ($p \leq 0.05$) was observed in spinach in chlorophyll, stomatal conductance and photosynthetic rate between 10 and 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$, however, in lettuce this difference was significant. Chlorophyll content in lettuce was higher than spinach in all treatments. The best concentration for photosynthetic capacity in both plants was five $\mu\text{mol L}^{-1}$, which could explain similar changes in root and shoot dry weight in the different treatments. The results showed that low selenium concentrations ($\leq 5 \mu\text{mol L}^{-1}$) stimulated NO_3^- assimilation by enhancing nitrate reductase (NR), nitrite reductase (NiR) and glutamine synthetase (GS) activities. The lowest nitrate reductase activity in lettuce and spinach was 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and control, respectively. In all treatments, nitrate reductase activity in lettuce was higher than in spinach. The reaction of nitrate reductase to selenium application was similar to nitrate reductase activity. Glutamine synthetase activity in both plants increased with increasing selenium concentration. However, as the concentration increased ($\geq 5 \mu\text{mol L}^{-1}$), the activity of this enzyme began to decrease. In addition, the activity of this enzyme was higher than control in all treatments. Selenium also increased glutathione peroxidase concentration. A significant increase in glutathione peroxidase activity at five $\mu\text{mol L}^{-1}$ was observed compared to the other treatments in lettuce. However, there was no significant difference in the activity of this enzyme in spinach at concentrations of 5 and 0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Conclusion: These results provided direct evidence that exogenous Se showed positive function on

1 and 2- Assistant Professor and M.Sc. Student, Department of Soil Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khorramabad, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: jalali.mah@lu.ac.ir)

decreasing NO_3^- accumulation via enhancing activities of nitrogen metabolism enzyme in both plants. This study suggested that five $\mu\text{mol L}^{-1}$ Se could be used to reduce NO_3^- content and increased hydroponic lettuce and spinach yield.

Keywords: Nitrate, Nitrogen metabolism enzyme, Photosynthetic parameters, Selenium



مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و

بیوشیمیایی ژربرا (*Gerbera jamesonii* Bolus. cv. Artist)

فاطمه قربانعلی زاده^۱ - مهناز کریمی^{۲*} - کامران قاسمی^۳ - مهرناز حاتمی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳

چکیده

یکی از عوامل تولید که در پرورش گل و گیاهان زینتی بسیار پر اهمیت است توجه به بستر کشت آن‌ها می‌باشد. در این پژوهش از سنبل آبی که در سال‌های اخیر به عنوان یک علف هرز مشکل ساز در تالاب‌ها و آبگیرهای شمال کشور مطرح بوده به عنوان یک منبع قابل دسترس برای تهیه کمپوست و از هیومیک اسید به جای نهاده‌های شیمیایی در تولید گل ژربرا رقم Artist استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. فاکتور اول کمپوست سنبل آبی (با نسبت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد حجمی) و فاکتور دوم هیومیک اسید (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بود. با توجه به نتایج بدست آمده اثر کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آن‌ها بر اکثر صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد با ۱۱۷ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد مربوط به کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بود. در این تیمار زمان ظهور گل ۴۰ روز زودتر نسبت به شاهد اتفاق افتاد. بیشترین محتوای کلروفیل با ۱۵۵/۵۲ درصد افزایش نسبت به شاهد در کمپوست ۲۵٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد. بیشترین میزان پتاسیم در بستر ۵۰٪ کمپوست + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد. میزان عنصر کلسیم در کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید در حداکثر بود. با توجه به نتایج به دست آمده استفاده از بستر کشت ۲۵ و ۵۰ درصد کمپوست سنبل آبی به همراه هیومیک اسید با غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر به منظور بهبود صفات رویشی، گلدهی و عمر گلجایی ژربرا توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بستر کاشت، عمر گلجایی، عناصر، زمان گلدهی

مقدمه

۱۹۴۰ به عنوان یک مشکل عمده مطرح گردید (۵۴). استفاده از سنبل آبی به عنوان یک منبع تجدید پذیر و پایدار، محصولات زیست محیطی و ارزان قیمت را فراهم خواهد کرد (۵۱). این گیاه حاوی بیش از ۹۵ درصد آب، عناصر غذایی زیاد (نیترژن، فسفر)، محتوای پروتئین و بافت‌های فیبری زیادی می‌باشد (۲۶). تبدیل سنبل آبی به کمپوست و ورمی کمپوست یکی از روش‌های موثر برای کنترل آن است که باعث کاهش به کارگیری کودهای شیمیایی و رشد ته‌اجمی آن در تالاب‌ها و مرداب‌ها می‌شود (۴۵). گزارش شده است کمپوست و ورمی کمپوست علاوه بر عناصر غذایی و مواد آلی، دارای مقادیر زیادی مواد هیومیکی می‌باشند که این مواد از طریق بهبود زیست فراهمی عناصر غذایی خاص، بویژه آهن و روی (۱۳) باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (۵۲). طبق گزارشی استفاده از کمپوست سنبل آبی بر روی گیاه زینتی کراساندرا (*Crossandra unduleafolia*) ارتفاع گیاه، تعداد برگ، طول ریشه، نسبت شاخساره به ریشه، وزن خشک کل، اولین گلدهی، تعداد گل، طول گل آذین و شاخص برداشت را بهبود بخشید (۲۲). در پژوهشی سنبل آبی در مقایسه با دیگر مواد آلی و کودهای غیر آلی تعداد گل را در گل جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta*) افزایش داد (۴۳). نوریان و

گل ژربرا گیاهی علفی از خانواده Asteraceae که دارای گل‌های رنگارنگ زیبایی است. به عنوان گل شاخه بریده، گلدانی و باغچه‌ای کشت می‌شود و از جمله ۱۰ گل شاخه بریده مهم جهان می‌باشد (۴۶). یکی از عوامل تولید که در پرورش گل و گیاهان زینتی دارای اهمیت فراوان است، توجه به بستر کشت آن‌ها می‌باشد. در سال‌های اخیر کشت بدون خاک یکی از سیستم‌های اصلی کشت در بین فنون مختلف استفاده شده در باغبانی و تولید گل‌های زینتی بوده است. یکی از عوامل مهم در یک سیستم کشت بدون خاک، انتخاب بستر مناسب است (۴۷). سنبل آبی (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) متعلق به خانواده Pontederiaceae از گیاهان آبزی و جزء ده گونه علف هرز مهاجم جهان محسوب می‌شود. این گیاه از سال

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیاران، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(*)- نویسنده مسئول: (Email: karimi@sanru.ac.ir)

۴- دانشیار، گروه گیاهان داروئی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.87001

همکاران (۴۱) اثر سطوح مختلف کمپوست و ورمی کمپوست سنبل آبی را در گیاه سوسن (*Lilium* sp.) مورد بررسی قرار دادند، با توجه به نتایج بدست آمده اثر سطوح پایین کمپوست و ورمی کمپوست بر روی صفات مورفولوژیکی و عمر گلجایی این گیاه معنی‌دار بود. این محققین همبستگی مثبتی در افزایش میزان کلسیم و عمر گلجایی در بسترهای حاوی کمپوست و ورمی کمپوست گزارش کردند (۴۱). استفاده از کود های طبیعی از جمله اسید هیومیک که یک پلیمر طبیعی در نتیجه پوسیدگی مواد آلی خاک است می‌تواند جهت افزایش محصول و کیفیت آن به کار گرفته شود (۲). شاهسون و چمنی (۴۹) گزارش کردند که هیومیک اسید بر خصوصیات رشد و عملکرد از جمله تعداد برگ، ارتفاع گیاه و میزان کلروفیل گل بریدنی شب بو (*Matthiola incana* 'Hanza') موثر بوده است. نیکبخت و همکاران (۴۰) با بررسی تأثیر هیومیک اسید بر گل شاخه بریدنی ژربرا نشان دادند که هیومیک اسید علاوه بر افزایش عملکرد، منجر به افزایش جذب کلسیم و در نتیجه افزایش عمر گلجایی گل و کاهش خمیدگی ساقه می‌شود. تولید بستر کشت ارزان و در دست رس می‌تواند سبب کاهش هزینه تولید در پرورش گیاهان زینتی باشد. افزایش هزینه و کاهش دسترسی پیت ماس و وارداتی بودن این محصول باعث مطالعه در زمینه کمپوست و بسترهای کشت جایگزین شده است هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر کمپوست سنبل آبی به عنوان یک منبع قابل دسترس جایگزین بسترهای کشت وارداتی (از جمله پیت ماس) در تلفیق با هیومیک اسید به جای نهاده‌های شیمیایی در تولید گل ژربرا بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتور اول کمپوست سنبل آبی (با نسبت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد حجمی جایگزین پیت ماس در تیمار شاهد) و فاکتور دوم هیومیک اسید (با غلظت‌های صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر) بود. ترکیب پیت ماس + پرلیت با نسبت حجمی ۲ به ۱ به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. برای تهیه کمپوست سنبل آبی، گیاه سنبل آبی از رودخانه‌ای در حاشیه شهر ساری جمع‌آوری شد. ابتدا برگ‌های سنبل آبی به قطعات ریز خرد شده و حدود هشت ساعت در آفتاب خشک شد و به ضخامت پنج سانتی‌متر در کف ظرف پخش گردید. روی این لایه به ضخامت یک سانتی متر کود دامی نیمه مایع به صورت یکنواخت پخش شد و در بالای آن لایه‌ای از خاکستر چوب و آهک قرار گرفت. سپس ۱۵ سانتی متر برگ خرد شده سنبل آبی و برگ سبز علف هرز مرغ ریخته شد. این کار مجدداً تکرار شد تا ارتفاع لایه به یک متر برسد. بالاترین لایه با برگ خشک درختان، علف، کود دامی، و آهک و ورقه

پلاستیکی مشکی پوشانده شد. به منظور هوادهی بهتر در مرکز آن یک سوراخ ایجاد گردید. برای تجزیه بهتر کمپوست هر ۱۵ روز یک بار توده زیر و رو شد بعد از گذشت ماه اول، مواد انباشته شده به رنگ قهوه‌ای روشن در آمد و برگ‌ها تا حدودی تجزیه شد و در نهایت بعد از گذشت دو و نیم ماه کمپوست آماده شد. بعد از این مرحله پوشش برداشته شد و کمپوست در زیر نور خورشید خشک گردید که بوی نامطبوع نداشته باشد (۳۳). گیاهچه‌های کشت بافتی ژربرا رقم Artist از شرکت طراوت سبز ثمین اصفهان تهیه و در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۹ سانتی‌متر در بسترهای مورد نظر کاشته شد. هیومیک اسید هر ده روز یک بار پای بوته استفاده گردید. میانگین دمای شب و روز در گلخانه در طول آزمایش به ترتیب 17 ± 2 و 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت گلخانه ۶۵ تا ۷۵ درصد بود. ۶ ماه بعد از کاشت صفات مورد بررسی شامل زمان گلدهی، تعداد گل، تعداد برگ، طول ساقه گل، قطر ساقه گل، قطر دیسک گل، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، میزان فنل (۳۵)، کلروفیل کل و کاروتنوئید (۶)، غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم برگ، نشت یونی گلبرگ (۵۸) و عمر گلجایی اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری عمر گلجایی، زمانی که گل به شکوفایی کامل رسید، ساقه گل جدا گردید و در ظرف حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در آزمایشگاه با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عمر گلجایی به صورت روزانه مشاهده و ثبت گردید. دوام عمر گل با شمارش تعداد روزهای پس از برداشت گل تا زمان پژمردگی ۵۰ درصد گل‌ها ارزیابی شد (۳۱). برای اندازه‌گیری غلظت عناصر، نمونه‌های برگ جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیده و به صورت پودر درآمدند. پس از تهیه عصاره، پتاسیم با استفاده از دستگاه فلاپم فتومتر اندازه‌گیری شد (۵۶). کلسیم به روش تیتراسیون با اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۰/۰۱ مولار محاسبه گردید (۱۱ و ۲۴). برای اندازه‌گیری نیتروژن از روش کج‌لدال استفاده شد. ۰/۲ گرم از برگ خشک را با کمک اسید سولفوریک غلیظ در دمای ۳۶۰ درجه سانتی‌گراد به کمک کاتالیزور هضم و سپس درصد نیتروژن با دستگاه کج‌لدال اتوماتیک مدل ۳۲۰ قرائت گردید (۵۰). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از جداول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اکثر شاخص‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای مختلف کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید قرار گرفتند.

جدول ۱- برخی خصوصیات شیمیایی مواد آلی مورد استفاده

Table 1- Selected chemical properties of organic matters used

	pH	EC	Na	K	P	N	C
		(mS cm ⁻¹)	(mg kg ⁻¹)			(%)	
کمپوست Compost	7.8	1.6	519	9783	355	2.4	2.9
پیت ماس Peat moss	6.9	0.65	589	325	51.9	1.7	5.8

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کمپوست و هیومیک اسید بر برخی صفات مورد بررسی در ژربرا رقم Artist

Table 2- ANOVA for measured traits in gerbera cv. Artist under different levels of compost and humic acid

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	زمان گلدهی Flowering time	تعداد گل Flower number	ارتفاع ساقه گل Flowering stem height	قطر ساقه گل Flowering stem diameter	قطر دیسک گل Flower disk diameter	تعداد برگ Leaf number
کمپوست (A) Compost	4	1201.30**	2.68**	119.74**	0.08**	0.098**	8.18**
هیومیک اسید (B) Humic acid	2	610.75**	3.35**	38.01**	0.35*	0.00067 ^{ns}	12.35**
A×B	8	20.45**	1.10**	9.13**	0.02**	0.00061 ^{ns}	2.10**
خطا Error	30	1.95	0.20	0.07	0.0048	0.00038	0.088
ضریب تغییرات CV(%)		6.08	27.19	0.54	1.40	0.21	4.95

^{ns} و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

^{ns}, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

تاثیر این ماده بر رشد ریشه و جذب عناصر غذایی در بستر کمپوست باشد، که باعث افزایش مقدار فتوسنتز و به دنبال آن افزایش مقدار کربوهیدراتها و تسریع در زمان ظهور گل گردید.

تعداد گل و برگ: کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آنها تاثیر معنی داری بر صفت تعداد گل و برگ در سطح احتمال یک درصد نشان دادند (جدول ۲). بیشترین تعداد گل با ۱۱۷ درصد افزایش نسبت به شاهد در کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد. این تیمار تفاوت معنی داری با کمپوست ۲۵٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و کمپوست ۵۰٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید در تعداد گل نشان نداد. بیشترین تعداد برگ در کمپوست ۷۵٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید ثبت شد (جدول ۳). مطابق با نتایج حاضر، استفاده از کمپوست سنبل آبی در ترکیب با پیت ماس در گل جعفری باعث افزایش تعداد گل شد (۴۳). طبق گزارش گاجالاکشمی و عباسی (۲۲) در گیاه کروساندرا کاربرد ورمی کمپوست و کمپوست سنبل آبی موجب افزایش تعداد برگ و گل در این گیاه گردید (۲۲).

زمان گلدهی: اثر کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آنها بر زمان گلدهی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). سریع ترین زمان شروع گلدهی در کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد، بطوریکه ۴۰ روز زودتر نسبت به شاهد اتفاق افتاد (جدول ۳). مطابق با یافته های پژوهش حاضر استفاده از کمپوست سنبل آبی بر روی گیاه زینتی کراساندرا زمان شروع اولین گلدهی را بهبود بخشید (۲۲)، همچنین طبق گزارش نوریان و همکاران (۴۱) کمپوست سنبل آبی تاثیر معنی داری بر زمان گلدهی سوسن از مرحله کاشت سوخ تا مرحله رنگ گیری اولین غنچه گل نشان داد (۴۱). شاهسون و چمنی (۴۹) گزارش کردند که مدت زمان رسیدن به اولین گلدهی در گل بریدنی شب بو تیمار شده با هیومیک اسید، نسبت به تیمار شاهد کوتاه گردید. کاهش زمان تا شروع گلدهی احتمالاً به دلیل تاثیر مواد هیومیکی بر افزایش توسعه ریشه و جذب سریع عناصر غذایی در بستر کشت می باشد (۱۵). میزان دسترسی به مواد غذایی نقش اساسی در ظهور گل دارد. کاهش تعداد روز تا ظهور گل در اثر کاربرد هیومیک اسید می تواند به دلیل

جدول ۳- اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی صفات مورد بررسی در گل ژربرا رقم Artist

Table 3- The effects of water hyacinth compost and humic acid on some characteristics in gerbera cv. Artist

هیومیک اسید Humic acid (mg. L ⁻¹)	کمپوست Compost (%)	زمان گلدهی Flowering time	تعداد گل Flower number	ارتفاع ساقه گل Flowering stem height (cm)	قطر ساقه گل Flowering stem diameter (mm)	تعداد برگ Leaf number
0	0%	44.00 ^a	1.00 ^b	49.16 ^c	4.77 ^c	5.00 ^e
	25%	23.00 ^g	1.00 ^b	48.26 ^c	4.75 ^c	5.00 ^e
	50%	19.00 ^h	1.00 ^b	46.00 ^f	4.72 ^c	5.00 ^e
	75%	25.33 ^f	1.66 ^b	46.00 ^f	4.76 ^c	5.00 ^e
	100%	40.00 ^b	1.00 ^b	44.33 ^h	4.78 ^c	5.00 ^e
250	0%	27.33 ^f	1.33 ^b	53.00 ^a	4.76 ^c	5.33 ^e
	25%	12.00 ^j	2.66 ^a	49.83 ^b	5.11 ^a	6.00 ^d
	50%	8.66 ^k	2.66 ^a	47.83 ^d	5.07 ^{ab}	7.00 ^c
	75%	19.66 ⁱ	1.00 ^b	46.07	5.13 ^a	8.33 ^b
	100%	36.66 ^c	1.00 ^b	45.50 ^g	5.08 ^{ab}	5.00 ^e
500	0%	30.00 ^e	1.33 ^b	53.00 ^a	4.77 ^c	6.00 ^d
	25%	10.33 ^{jk}	2.66 ^a	50.00 ^b	4.99 ^b	6.33 ^d
	50%	4.00 ^l	3.33 ^a	48.00 ^d	5.12 ^a	7.33 ^c
	75%	14.66 ⁱ	1.66 ^b	47.16 ^e	5.12 ^a	9.00 ^a
	100%	33.00 ^d	1.33 ^b	46.00 ^f	5.09 ^{ab}	5.00 ^e

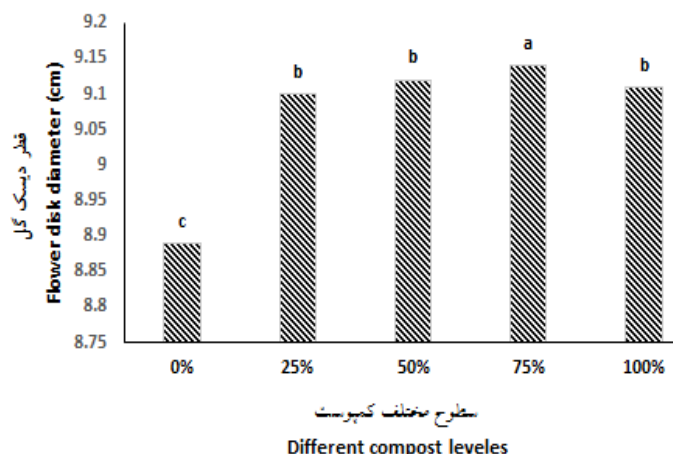
در هر ستون میانگین‌های حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

Each column, means with the similar letters are not significantly different at 5% of probability level using LSD test.

کمپوست ۷۵٪ قطر دیسک گل با ۲/۸ درصد افزایش نسبت به شاهد در حداکثر بود (شکل ۱). در پژوهشی بر گل جعفری، کاربرد کمپوست باعث افزایش قطر گل و تعداد جوانه‌های گل گردید (۲۹). در بررسی اثر بستر کشت‌های مختلف روی گل ژربرا بیشترین قطر گل در بستر ورمی کمپوست + کوکوپیت + سبوس برنج گزارش شد (۱۲). کاربرد کمپوست در بستر کشت به علت ویژگی اصلاح فیزیکی خاک، حفظ رطوبت و تعادل عناصر غذایی باعث رنگ‌گیری و افزایش قطر گل در گیاهان زینتی می‌شود (۸). احتمالاً به دلیل وجود عناصر غذایی و مواد شبه اکسینی موجود در کمپوست، افزایش در تقسیم یاخته‌ای و در نهایت افزایش در قطر گل مشاهده شد.

کاربرد هیومیک اسید در شمع‌دانی منجر به بهبود صفات رشدی گیاه شد (۱). هیومیک اسید، با فعالیت شبه هورمونی، تأثیر فراوانی بر جذب عناصر غذایی و عملکرد گیاهان دارد که با فراهمی و در دسترس قرار دادن عناصر، باعث بهبود رشد رویشی و زایشی می‌شود (۱۷). گزارش شده است کمپوست و ورمی کمپوست علاوه بر عناصر غذایی و مواد آلی، دارای مقادیر زیادی مواد هیومیکی می‌باشند که این مواد از طریق بهبود زیست فراهمی عناصر غذایی خاص، بویژه آهن و روی (۱۳) باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند (۵۲).

قطر دیسک گل: اثر ساده کمپوست بر قطر دیسک گل معنی‌دار، و اثر هیومیک اسید و برهمکنش آنها معنی‌دار نبود (جدول ۲). در



شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف کمپوست بر قطر دیسک گل ژربرا رقم Artist

Figure 1- The effects of different compost levels on flower disk diameter of gerbera cv. Artist

ارتفاع و قطر ساقه گل: اثر تیمارهای مورد استفاده بر ارتفاع و قطر گل معنی دار بود (جدول ۲)، بطوریکه بیشترین ارتفاع ساقه در کمپوست صفر درصد و هیومیک اسید ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر ثبت شد (جدول ۳). کمترین ارتفاع ساقه در کمپوست ۱۰۰٪ بدون تیمار هیومیک اسید بود. در اکثر تیمارهایی که کمپوست و هیومیک اسید استفاده شد قطر ساقه در حداکثر بود. بطوریکه بیشترین میزان در کمپوست ۷۵٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید ثبت شد (جدول ۳). شادان پور و همکاران (۴۸) اثر کود آلی ورمی کمپوست کود گاوی را به عنوان بستر کاشت گل جعفری مورد بررسی قرار دادند. بیشترین ارتفاع بوته در تیمار ۶۰٪ پیت و ۴۰ درصد پرلیت ثبت شد. با توجه به نتایج به دست آمده هیومیک اسید در افزایش طول ساقه نسبت به تیمار شاهد موثر واقع شد. نتایج پژوهشی نشان داد که استفاده از اسید هیومیک ارتفاع گل حنا را نسبت به شاهد افزایش داد (۲۰). همچنین گزارش شد، اسید هیومیک می تواند با افزایش جذب مواد غذایی و انتقال مواد هورمونی باعث افزایش طول ریشه و ساقه گردد (۱۹)، اما با توجه به افزایش ارتفاع ساقه گل در بستر شاهد (پیت

+ پرلیت)، شاید بتوان تهویه مناسب، خلل و فرج کافی و همچنین EC پایین تر (نگهداری پایین تر یون کلر) بستر شاهد را نسبت به بستر کمپوست دلیل اصلی افزایش ارتفاع ساقه گل در بستر شاهد دانست. در پژوهشی کاربرد بستر کشت سیلت + کمپوست و کود دامی سبب افزایش ضخامت ساقه گل در گیاه ژربرا گردید (۱۰). بر اساس گزارش میرزایی و همکاران (۳۶) با کاربرد هیومیک اسید و نانو کلات کلسیم قطر گل و ساقه گل ۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. در پژوهش حاضر با توجه به افزایش عناصر غذایی در بستر کشت سنبل آبی یکی از علل افزایش قطر ساقه را می توان افزایش عناصر معدنی در دسترس گیاه دانست. پژوهشگران اظهار داشتند هیومیک اسید ترکیب پلیمری طبیعی است که می تواند به صورت مستقیم (به عنوان ترکیب شبه هورمونی اکسین و سایتوکینین) و یا غیر مستقیم باعث افزایش جذب عناصر غذایی شود که در نتیجه جذب مواد غذایی و افزایش تقسیم سلولی توسط هیومیک اسید باعث افزایش قطر ساقه می گردد (۳۸).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر کمپوست و هیومیک اسید بر برخی صفات مورد بررسی در ژربرا رقم Artist
Table 4- ANOVA for measured traits in gerbera cv. Artist under different levels of compost and humic acid

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	وزن تر شاخساره Leaf fresh weight	وزن خشک شاخساره Leaf dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	کلروفیل کل Total chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoid	فنل Total phenol
کمپوست (A) Compost	4	0.08 ^{ns}	5.34**	104.61**	8.36**	8.62**	35021.16**	1.06**
هیومیک اسید (B) Humic acid	2	0.40 ^{ns}	0.07 ^{ns}	340.99**	7.19**	26.61**	91699.28**	1.94**
A*B	8	0.16 ^{ns}	1.67*	19.83**	0.78**	3.23**	5059.77**	0.17**
خطا Error	30	0.21	0.62	2.26	0.013	0.066	94.74	0.00039
ضریب تغییرات CV(%)		1.26	12.24	8.03	2.091	4.86	3.28	1.05

^{ns} و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج و یک درصد
^{ns}, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

وزن تر و خشک شاخساره و ریشه: با توجه به نتایج بدست آمده مقادیر متفاوت کمپوست و هیومیک اسید بر وزن تر شاخساره تفاوت معناداری ایجاد نکرد. اما اثر کمپوست و برهمکنش کمپوست و هیومیک اسید بر وزن خشک شاخساره معنی دار بود (جدول ۴). بیشترین وزن خشک شاخساره با ۱۸/۴۱ درصد افزایش نسبت به شاهد در کمپوست ۷۵٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد که با تیمار کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید اختلاف معناداری نداشت. کمترین وزن خشک

شاخساره در کمپوست ۱۰۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید ثبت شد. اثر کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آنها بر وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۴). بیشترین وزن تر در کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر ثبت شد که با تیمارهای ۲۵٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و کمپوست ۵۰٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید تفاوت معنی داری نشان نداد. بیشترین وزن خشک ریشه در کمپوست ۵۰٪ + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید ثبت شد (جدول ۵). در پژوهشی

کاربرد کود آلی ورمی کمپوست و هیومیک اسید بر وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه لیزیانوس اثر مثبت داشته است (۹). در بررسی حاضر نیز احتمالاً به دلیل بهبود رشد رویشی از جمله افزایش تعداد برگ در بسترهای حاوی کمپوست و هیومیک اسید، افزایش در وزن خشک شاخساره مشاهده شد. در پژوهشی که به منظور جایگزینی کمپوست پسته بادم زمینی به جای پیت در بستر کشت گیاه در اسنا صورت گرفت، کاربرد ۴۵٪ کمپوست پسته بادم زمینی به جای پیت در بستر پیت و پرلیت، باعث افزایش وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد (۴). مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر، با کاربرد

کمپوست سنبل آبی وزن خشک ریشه ذرت افزایش پیدا کرد (۴۲). چنین بیان می‌شود که هیومیک اسید موجب افزایش رنگدانه کلروفیل و فتوسنتز شده و ماده خشک تولیدی در گیاه افزایش می‌یابد. همچنین اسید هیومیک با اثراتی شبیه به هورمون اکسین، موجب افزایش رشد ریشه و به دنبال آن افزایش وزن خشک ریشه می‌گردد (۲۳) و همچنین به نظر می‌رسد بخشی از آثار کمپوست بر افزایش وزن تر و خشک ریشه نیز در نتیجه وجود مواد هیومیکی موجود در کمپوست باشد.

جدول ۵- اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی صفات در گل ژیربا رقم Artist

Table 5- The effects of water hyacinth compost and humic acid on some characteristics in gerbera flower cv. Artist

هیومیک اسید Humic acid (mg .L ⁻¹)	کمپوست Compost (%)	شاخساره Leaf dry weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g DW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/g DW)	فنل کل Total phenol (mg/g DW)
0	0%	6.30 ^{a-d}	13.23 ^g	4.86 ^j	3.26 ⁱ	201.44 ^h	1.52 ^{kl}
	25%	6.96 ^{abc}	14.90 ^{efg}	5.18 ^{hi}	3.80 ^h	182.69 ^j	1.41 ^m
	50%	7.00 ^{abc}	15.80 ^{d-g}	5.00 ^{ij}	3.64 ^{hi}	216.43 ^{gh}	1.32 ⁿ
	75%	5.60 ^d	17.06 ^{cde}	4.96 ^j	3.50 ^{hi}	227.83 ^g	1.50 ^l
	100%	6.10 ^{bcd}	13.89 ^{fg}	3.96 ^l	4.70 ^{fg}	205.85 ^h	1.54 ^k
250	0%	6.03 ^{cd}	17.86 ^{cd}	5.33 ^{gh}	4.52 ^{fg}	253.45 ^{ef}	2.04 ^d
	25%	7.20 ^{abc}	23.93 ^b	6.67 ^d	7.60 ^b	245.56 ^f	1.82 ^h
	50%	6.43 ^{a-d}	27.86 ^a	7.21 ^b	6.95 ^c	382.50 ^c	1.62 ^j
	75%	7.46 ^a	22.50 ^b	5.83 ^f	5.90 ^e	426.39 ^b	1.93 ^f
	100%	5.36 ^{de}	18.73 ^c	4.35 ^k	4.28 ^g	348.34 ^d	2.87 ^b
500	0%	7.00 ^{abc}	16.16 ^{c-f}	5.44 ^g	4.91 ^f	264.37 ^e	2.09 ^c
	25%	7.26 ^{abc}	28.98 ^a	6.96 ^c	8.33 ^a	250.37 ^{ef}	1.87 ^g
	50%	7.43 ^a	29.22 ^a	7.53 ^a	7.26 ^{bc}	410.28 ^b	1.66 ⁱ
	75%	7.36 ^{ab}	23.40 ^b	6.37 ^e	6.49 ^d	461.47 ^a	2.00 ^e
	100%	4.26 ^e	22.19 ^b	4.10 ^l	4.44 ^g	369.04 ^c	2.92 ^a

در هر ستون میانگین‌های حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون LSD ندارند.

Each column, means with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using LSD test.

موثر واقع شد که ممکن است به دلیل نقش آن در پایین آوردن pH و افزایش رنگدانه کلروفیل باشد (۳۰). شاهسون و چمنی (۴۹) گزارش کردند که هیومیک اسید بر رشد و عملکرد از جمله بر تعداد برگ، ارتفاع گیاه و میزان کلروفیل گل بریدنی شب بو موثر بوده است. محلول‌پاشی ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید نقش موثری در افزایش کاروتنوئید برگ همیشه بهار داشت (۱۷). محتوای کلروفیل برگ به‌عنوان یک عامل مهم در تعیین ظرفیت فتوسنتزی برگ محسوب می‌شود (۳۰). با توجه به ارتباط مستقیم بین نیتروژن و رنگیزه‌های برگ، کود آلی به تدریج، نیتروژن آزاد می‌کند در نتیجه سبب افزایش میزان رنگیزه می‌شود (۳۷). کودهای آلی به واسطه داشتن عناصر مغذی و تأمین آب در دسترس گیاه باعث افزایش

کلروفیل کل و کاروتنوئید: بر اساس نتایج به دست آمده تیمارهای مورد استفاده تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر رنگدانه کلروفیل و کاروتنوئید برگ داشتند (جدول ۴). در جدول مقایسه میانگین (جدول ۵) بیشترین محتوای کلروفیل در کمپوست ۲۵٪ + ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید و بیشترین محتوای کاروتنوئید در کمپوست ۷۵٪ + ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هیومیک اسید نشان داده شده است (جدول ۵). در پژوهشی کاربرد سنبل آبی محتوای کلروفیل را در برگ گیاه گندم در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داد. گزارش شد، سنبل آبی دارای عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم است بنابراین کاربرد این ماده باعث افزایش محتوای کلروفیل گردید (۵۵). هیومیک اسید در افزایش کلروفیل برگ و غلاف لویا

محتوای فنل در کمپوست $100\% + 500$ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد که نسبت به شاهد $92/10$ درصد افزایش داشت. کمترین میزان فنل در کمپوست 50% ثبت شد (جدول ۵). در پژوهش عابدینی و همکاران (۳) کاربرد 500 میلی گرم در لیتر هیومیک اسید باعث افزایش فنل کل در گیاه همیشه بهار گردید. پژوهشگران گزارش کردند که هیومیک اسید منجر به افزایش ترکیب‌های فنولی می‌شوند (۱۸). کاربرد کودهای آلی به دلیل افزایش دسترسی گیاه به مواد غذایی بویژه کربن و نیتروژن موجب افزایش ترکیبات فنلی می‌گردد (۲۵). برای ساخت و سنتز ترکیبات فنولی، حضور کربوهیدرات‌ها لازم و ضروری می‌باشد. افزایش در مقدار کربوهیدرات‌ها، سبب افزایش سنتز ترکیبات فنولی می‌گردد که دلیل این امر ممکن است به اختصاص یافتن بیشتر کربن به مسیر شیکمیک اسید (مسیر ساختن ترکیبات فنلی) باشد (۴۴).

میزان کلروفیل می‌شوند که می‌تواند دلیلی بر افزایش محتوای کلروفیل گیاهان ژربرا در بستر کمپوست سنبل آبی در پژوهش حاضر باشد. اسید هیومیک نقش مؤثری در افزایش نفوذپذیری غشا سلولی دارد و سبب نفوذ بیشتر عناصر از جمله منیزیم، نیتروژن و ... به درون سلول می‌شود؛ بنابراین می‌توان بیان داشت که افزایش میزان کلروفیل به علت نقش مؤثر اسید هیومیک است (۷). افزایش جذب عناصر غذایی در اثر کاربرد هیومیک اسید در گیاه منجر به افزایش جذب نیتروژن در گیاه می‌شود. در نتیجه با افزایش میزان جذب نیتروژن گیاه افزایش میزان کلروفیل و افزایش سبزیگی در گیاه امری بدیهی است (۴۹). پژوهشگران اعلام کردند که هیومیک اسید سبب افزایش رنگیزه کاروتنوئید در برگ‌ها می‌شود (۲۱).

فنل: اثر کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آنها بر محتوای فنل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۹). بیشترین

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی صفات در گل ژربرا رقم Artist
Table 6- ANOVA for measured traits in gerbera cv. Artist under different levels of compost and humic acid

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی df	نیتروژن N	فسفر P	پتاسیم K	کلسیم Ca	نشت یونی Electrolyte leakage	عمر گلجایی Vase life
کمپوست (A) Compost	4	0.17**	0.0084**	8.01**	0.0084**	73.81**	9.07**
هیومیک اسید (B) Humic acid	2	4.43**	0.049**	0.41**	0.02**	207.18**	18.86**
A×B	8	0.04**	0.0051**	0.21**	0.0017**	6.06**	0.97**
خطا Error	30	0.0011	0.0010	0.0030	0.00011	1.04	0.17
ضریب تغییرات CV (%)		1.09	12.48	1.10	9.24	5.79	7.18

ns و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and ** are non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

هیومیک اسید مشاهده شد (جدول ۷). طبق پژوهشی کمپوست سنبل آبی و کود سبز حاصل از *Tithonia diversifolia* به نسبت سه به یک باعث بهبود عناصر غذایی در خاک شد (۱۴). هیومیک اسید، سبب افزایش نیتروژن و فسفر در چمن بنت گراس گردید (۳۴). مصرف غلظت 1000 میلی گرم در لیتر هیومیک اسید باعث افزایش محتوای پتاسیم در برگ‌های ژربرا شد (۴۰). کودهای آلی به خصوص کمپوست‌ها دارای مقادیر فراوانی مواد آلی هستند و در هنگام تجزیه شدن بر میزان عناصر خاک می‌افزایند (۵۷). کمپوست شامل مواد غذایی اصلی گیاه نیتروژن، فسفر و پتاسیم است (۱۶). اسید هیومیک نفوذپذیری غشاء سلولی را افزایش می‌دهد (۱۵) و با خاصیت بافری در خنثی کردن pH خاک و افزایش حجم ریشه باعث افزایش

غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم برگ: با توجه به نتایج آزمایش، اثر کمپوست، هیومیک اسید و برهمکنش آنها بر غلظت عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم معنی‌دار بود (جدول ۶). بیشترین میزان نیتروژن در بستر 50% کمپوست $+ 500$ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید ثبت شد. بیشترین میزان فسفر در کمپوست $75\% + 250$ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد، که تفاوت معنی‌داری با کمپوست 100% ، 75% ، 50% ، 500 میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و کمپوست 50% ، $25\% + 250$ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید وجود نداشت. بیشترین میزان پتاسیم در بستر 50% کمپوست $+ 250$ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید و بیشترین میزان عنصر کلسیم در بستر 50% کمپوست $+ 500$ میلی گرم در لیتر

جذب عنصر غذایی و رهاسازی و برداشت بهتر عناصر صورت می‌گیرد (۳۲). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، کمپوست دارای میزان عناصر بالاتری نسبت به بستر پیت ماس است که به همراه هیومیک اسید می‌تواند یکی از دلایل افزایش این عناصر در برگ گیاهان ژربرا باشد.

نشت یونی گلبرگ و عمر گلجایی: اثر کمپوست سنبل آبی، هیومیک اسید و برهمکنش آنها بر نشت یونی سلول و عمر گلجایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نشت یونی گلبرگ با ۵۶/۷۹ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد در بستر ۵۰٪ کمپوست + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بود. بیشترین عمر گلجایی با ۷۱/۶۷ درصد افزایش نسبت به شاهد در بستر ۲۵٪ و ۵۰٪ کمپوست + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری بین این تیمارها و کمپوست ۲۵٪ و ۵۰٪ + ۲۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده نشد (جدول ۷). همانطور که مشاهده شد کمپوست و هیومیک اسید باعث افزایش عمر گلجایی نسبت به شاهد شدند. بر اساس پژوهش نوریان و همکاران (۴۱) بیشترین عمر گلجایی (۹ روز) در گل‌های شاخه بریدنی لیلیوم در بستر ۲۰٪ کمپوست سنبل آبی گزارش شد. طبق گزارش حقیقی و همکاران (۲۷) کاربرد اسید هیومیک در کشت هیدروپونیک ژربرا با افزایش سطح مواد غذایی توانست عمر پس از برداشت ژربرا را تا ۹/۳۳ روز افزایش دهد. هیومیک اسید به دلیل اثر مستقیم شبه هورمونی یا اثر غیرمستقیم بر افزایش جذب عناصر به ویژه کلسیم به افزایش مقاومت مکانیکی دیواره یاخته‌ای و ثبات بیشتر غشای یاخته‌ای کمک

می‌کند (۴ و ۳۹). کمپوست با تأثیر روی سنتز هورمون‌ها به‌ویژه اکسین، سبب افزایش جذب عناصر در بستر به ویژه کلسیم می‌شود. این عنصر در دوام و ماندگاری گل نقش دارد (۷). یون کلسیم با تأثیر بر فعالیت اتیلن در غشای سلولی برگ‌ها و جلوگیری از نشت اتیلن، پیری را به تأخیر می‌اندازد (۵۳). در پژوهش حاضر بیشترین میزان عنصر کلسیم در بستر ۵۰٪ کمپوست + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید مشاهده شد و بیشترین عمر گلجایی نیز نسبت به شاهد در بستر ۵۰٪ کمپوست + ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید بود. نیکبخت و همکاران دریافته‌اند که در طول خمیدگی ساقه ژربرا، یاخته‌ها روی همدیگر می‌افتند و آوندهای چوبی از حالت طبیعی خود خارج می‌شوند و منجر به از هم گسیختگی یاخته‌ها می‌شود. در نتیجه حرکت آب به سمت گل‌آذین مختل شده و منجر به پیری زودرس گل می‌گردد. هر چه مقدار کلسیم موجود در دیواره بیشتر باشد عمر پس از برداشت گل بیشتر بوده و احتمال خمیدگی و پژمردگی گل پس از برداشت کمتر می‌شود. با توجه به ارتباط نزدیک بین نشت یونی و عمر گلجایی تیمار هیومیک اسید منجر به کاهش درصد نشت یونی و در نتیجه افزایش دوام عمر گل می‌شود. در پژوهش حاضر نیز عمر گلجایی در گیاهانی با نشت یونی کمتر در حداکثر بود (جدول ۷). در پژوهش حاضر، بسترهای حاوی کمپوست احتمالا به دلیل افزایش عناصر موجود در برگ، بویژه کلسیم سبب حفظ یکپارچگی غشاء گردیدند.

جدول ۷- اثر کمپوست سنبل آبی و هیومیک اسید بر برخی صفات در گل ژربرا

Table 7- Mean comparison of the effect of water hyacinth compost and humic acid on some characteristics in Gerbera flower

هیومیک اسید Humic Acid (mg. L ⁻¹)	کمپوست (%) Compost	نیتروژن N (%)	فسفر (%) P	پتاسیم K (%)	کلسیم (%)	نشت یونی Electrolyte leakage (%)	عمر گلجایی Vase life (day)
0	0%	2.52 ^{hi}	0.21 ^{cd}	3.63 ^j	0.07 ^{gh}	23.26 ^a	4.66 ^e
	25%	2.56 ^{hi}	0.18 ^{de}	5.13 ^h	0.07 ^g	21.05 ^{bc}	5.00 ^{de}
	50%	2.54 ^{hi}	0.15 ^e	5.01 ⁱ	0.10 ^f	19.36 ^{cd}	5.00 ^{de}
	75%	2.57 ^h	0.19 ^{de}	5.20 ^{gh}	0.07 ^{gh}	22.40 ^{ab}	4.66 ^e
	100%	2.51 ⁱ	0.21 ^{cd}	5.25 ^{gf}	0.05 ^h	22.82 ^a	3.66 ^f
250	0%	3.30 ^e	0.19 ^{de}	3.23 ^k	0.08 ^g	20.93 ^{bc}	5.00 ^{de}
	25%	3.55 ^c	0.32 ^a	5.71 ^b	0.12 ^{def}	14.78 ^{gf}	7.66 ^a
	50%	3.63 ^b	0.31 ^a	5.89 ^a	0.13 ^{cd}	13.33 ^{gh}	7.66 ^a
	75%	3.40 ^d	0.33 ^a	5.70 ^b	0.12 ^{de}	15.51 ^f	6.00 ^{bc}
	100%	3.12 ^g	0.30 ^{ab}	5.34 ^{ef}	0.11 ^{ef}	18.84 ^{de}	5.00 ^{de}
500	0%	3.65 ^b	0.21 ^{cd}	3.17 ^k	0.10 ^f	19.96 ^{cd}	5.33 ^{cde}
	25%	3.64 ^b	0.26 ^{bc}	5.49 ^d	0.18 ^b	12.31 ^h	8.00 ^a
	50%	3.78 ^a	0.32 ^a	5.66 ^{bc}	0.24 ^a	10.05 ⁱ	8.00 ^a
	75%	3.45 ^d	0.32 ^a	5.59 ^c	0.15 ^c	12.93 ^h	6.66 ^b
	100%	3.21 ^f	0.32 ^a	5.39 ^e	0.10 ^f	17.48 ^e	5.66 ^{cd}

در هر ستون میانگین‌های حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با هم در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

Each column, means with the similar letters are not significantly different at 5% of probability level using LSD test.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد بستر کشت کمپوست حاصل از سنبل آبی به همراه هیومیک اسید به دلیل بهبود محیط ریشه و افزایش جذب بهتر عناصر غذایی باعث افزایش

خصوصیات کمی، کیفی و عمر پس از برداشت گل شاخه بریده ژربرا رقم Artist در مقایسه با بستر کشت شاهد (پیت + پرلیت) گردید. کمپوست ۵۰ درصد در ترکیب با غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید به عنوان بهترین تیمار معرفی شد.

منابع

- 1- Abbaszadeh Faruji R., Shoor M., Tehranifar A., Abedi B., and Safari N. 2018. Effects of humic acid and fulvic acid on some morphological characteristics of geranium. *Journal of Horticultural Science* 32: 35-50.
- 2- Abedi T., and Pakniyat H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 46: 27- 34.
- 3- Abedini T., Moradi P., Hani A. 2015. Effect of organic fertilizer and foliar application of humic acid on some quantitative and qualitative yield of pot marigold. *Journal of Novel Applied Sciences* 4(10): 1100-1103.
- 4- Alidoust M., Mohammadi Torkashvand A., Mahboub Khomami A. 2012. The effect of growth medium of peanut shells compost and nutrient solution on the growth of *Dracaena*. *Annals of Biological Research* 3 (2): 789-794.
- 5- Amiri H., Ismaili A., and Hosseinzadeh S.R. 2017. Influence of vermicompost fertilizer and water deficit stress on morpho-physiological features of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Karaj). *Compost Science and Utilization* 25(3): 152-165.
- 6- Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal* 23: 112- 121.
- 7- Asri F., Demirtas E., and Ari N. 2015. Changes in fruit yield, quality and nutrient concentrations in response to soil humic acid applications in processing tomato. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 21(3): 585-591.
- 8- Atiyeh R.M., Arancon N.Q., Edwards C.A., and Metzger J.D. 2002. The influence of earth-worm-processed pig manure on the growth and productivity of marigold, *Bioresource and Technology* 81: 103-108.
- 9- Bahaloo Z., Reezi S., Rabiei Gh., and Saeedi K. 2018. The positive effects of vermicompost and humic acid on quantitative and qualitative traits of lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) after transplanting. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture Soilless Culture Research Center* 8(4): 17-25
- 10- Caballero R.P., Pajuelo J., Ordovas E., Carmona C., and Delgado A. 2009. Evaluation and correction of nutrient availability to *Gerbera jamesonii* H. Bolus in various compost-based growing media. *Scientia Horticulturae* 122(2): 244-250.
- 11- Chapman H.D., and Pratt P.F. 1961. Method of analysis for soils, plants and waters. University of California. Division of Agricultural Sciences.
- 12- Chauhan R.V., Varu D.K., Kava K.P., and Savaliya V.M. 2014. Effect of different media on growth, flowering and cut flower yield of gerbera under protected condition. *The Asian Journal of Horticulture* 9(1): 228-231.
- 13- Chen Y., De-Nobili M., and Aviad M. 2004. Stimulatory effects of humic substances on plant growth. *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp: 103-29
- 14- Chukwuka K.S., and Omotayo O.E. 2008. Effects of tithonia green manure and water hyacinth compost application on nutrient depleted soil in South-Western Nigeria. *International Journal of Soil Science* 3(2): 69-7.
- 15- Dann P.R., Derrick J.W., Dumaresq D.C., and Ryan M.H. 1996. The Response of Organic and Conventionally Grown Wheat to Superphosphate and Reactive Phosphate Rock. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 36: 71-78.
- 16- Edwards S., Asmelash A., Araya H., Berhan T., Egziabher G. 2007. Impact of compost use on crop yields in Tigray, Ethiopia, 2000-2006 inclusive. FAO, Rome.
- 17- Elhavirdi Zadeh N., and Nazari Deljo M.J. 2014. Effect of humic acid on the effect of humic acid on morpho-physiological indices, nutrient uptake and longevity after harvest of perennial cut flowers (*Calendula officinalis*). *Crysanth in hydroponic system*. *Science and Techniques of Greenhouse Cultivation* 5(18): 133-142. (In Persian)
- 18- Elmongy M.S., Zhou H., Cao Y., Liu B., and Xia Y. 2018. The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during in vitro rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae* 227: 234-243.
- 19- Eshghi S., and Garazhian M. 2015. Improving growth, yield and fruit quality of strawberry by foliar and soil drench applications of humic acid. *Iran Agricultural Research* 34 (1): 14-20.
- 20- Esringu A., Sezen I., Aytatli B., Ercisli S. 2015. Effect of humic and fulvic acid application on growth parameters in *Impatiens walleriana* L. *Akademik Ziraat Dergisi* 4(1): 37- 42.
- 21- Ferrara G., Pacifico A., Simeone P., and Ferrara E. 2008. Preliminary study on the effects of foliar applications of humic acids on 'Italia' table grape. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 42: 79-87.
- 22- Gajalakshmi S., and Abbasi S.A. 2002. Effect of the application of water hyacinth compost/vermicompost on the

- growth and flowering of *Crossandra undulaefolia* and on several vegetables, *Bioresource Technology* 85: 197–199.
- 23- Ghasemi A., Tavakalo M.R., and Zabihi H.R. 2012. Effect of nitrogen, potassium and humic acid on vegetative growth, nitrogen and potassium uptake of potato minituber in greenhouse condition. *Journal of Agriculture and Plants Breeding* 8(1): 39-56. (In Persian)
- 24- Ghazan Shahi J. 2006. Soil and plant analysis. *Translator motarjem*, pp. 311.
- 25- Ghorbanli M., Saadatmand L., and Niakan M. 2011. Study the effects of natural habitats on flavonoids poly phenols, anthocyanin and their related antioxidant activity in *Elaeagnus agustifolia*. The first congress on advanced Agricultural finding, Islamic Azad University Saveh, Iran. (In Persian)
- 26- Gunnarson C., and Mattsson C. 1997. Water hyacinth-trying to turn an environmental problem into an agricultural resource. MFS-report no. 25, Swedish University of Agriculture.
- 27- Haghighi M., Nikbakht A., Ping Xia Y., 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(2): 177-188.
- 28- Hanafy A.A.H., Nesiem M.R.A.M., and Salla H. 2010. Effect of some simulative Compounds on Growth, Yield and Chemical Composition of Snap Bean Plants Grown under Calcareous Soil Conditions. *Journal of American Science* 6(10): 552-569.
- 29- Hidlago P.R., Matta F.B., and Harkess R.L. 2006. Physical and chemical properties of substrates containing earthworm castings and effects on marigold growth. *Horticultural Science* 4(1): 1474-1476.
- 30- Hossain Z., Kurihara H., and Takahashi K. 2003. Biochemical composition and lipid compositional properties of the brown alga *Sargassum horneri*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6(17): 1497-1500.
- 31- Humic acid and folic acid on some morphological characteristics of geranium. *Horticultural Science* 32: 35–50.
- 32- John Elgar H., Woolf A.B., and Bielecki R.L. 1999. Ethylene production by three lily species and their response to ethylene exposure. *Postharvest Biology and Technology* 1(6): 257–267.
- 33- Jones C.A., Jacobsen J.S., and Mugaas A. 2004. Effects of humic acid on phosphorus availability and spring wheat yield. *Facts Fertilizer* 32: 345-352.
- 34- Kafel M.R., Kafel G., Balla M.K., and Dhakal L. 2009. Results of experiment of preparing compost from invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in Rupa Lake Area Nepal. *Journal of Wetlands Ecology* 2: 17-19.
- 35- Mackowiak C.L., Grossl P.R., and Bugbee B.G. 2001. Beneficial effects of humic acid on micronutrient availability to wheat. *Soil Science Society of America Journal* 65: 174-1750.
- 36- McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73: 73-84.
- 37- Mirzaei N., Jabbarzadeh Z., Rasouli Sadaghiani M. 2019. Investigation of Some Morphological and Biochemical Characteristics and Vase Life of *Gerbera jamesonii* cv. Dune Cut Flower Using Humic Acid and Nano Calcium Chelate. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology* 20(2): 157-170.
- 38- Munns R., and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- 39- 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.
- 40- Nazari Deljou M., Pour Youssef Karamian M., 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.
- 41- Nikbakht A., Kafi M., Babalar M., Xia Y.P., Luo A., and Etemadi N.A. 2008. Effect of humic acid on p growth, nutrient uptake, and postharvest life of *Gerbera*. *Journal of Plant Nutrition* 31: 2155-21267.
- 42- Norian N., Rohollahi I., Karimi M. 2018. Evaluation of Organic Fertilizer from Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) as substrate for *Lilium* sp. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology* 19(3): 267-276. (In Persian)
- 43- Osoro N., Muoma J.O., Amoding A., Mukaminega D., Muthini M., Ombori O., and Maingi M. 2014. Effect of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) compost on growth and yield parameters of maize. *British Journal of Applied Science & Technology* 4(4): 617-633.
- 44- Paul S., and Bhattacharya S. 2012. Vermicomposted water hyacinth growth and yield of marigold by improving nutrient availability in soils of north bank Assam. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2(1): 1-11.
- 45- Phuong M., Nguyen E.M., and Niemeyer K.E.D. 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry* 123: 1235–1241.
- 46- Prasad R., Singh J., and Kalamdhad A.S. 2013. Assessment of nutrients and stability parameters during composting of water hyacinth mixed with cattle manure and sawdust. *Research Journal of Chemical Sciences* 3(4): 1–4.
- 47- Parthasarathy V.A., and Nagaraju V. 1999. An In-vitro propagation in *Gerbera Jamesonii* Bolus. *Indian Journal of Horticulture* 56:82–83
- 48- Shabani T., Peyvast G.H., and Olfati J. 2011. Effect of different substrates on quantitative and qualitative traits of

- three pepper cultivars in soilless culture. Journal Science and Technology of Greenhouse Culture, 2: 11–21.
- 49- Shadanpour F., Mohammadi Torkashvand A., Hashemi Majd K. 2011. The effect of cow manure vermicompost as the planting medium on the growth of Marigold Annals of Biological Research 2(6): 109-115.
- 50- Shahsavan Markadeh M., 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 Soilless Culture Research Center 5(3): 157-171.
- 51- Sharaf A.I., and El-Naggar A.H. 2003. Response of Carnation plant to phosphorus and boron foliar fertilization under greenhouse conditions. Alexandria Journal of Agricultural Sciences 48(1): 147-158.
- 52- Sindhu R., Binod P., Pandey A., Madhavan A., Jose A. A., Vivek N., Gnansounou E., Castro E., and Faraco V. 2017. Water hyacinth a potential source for value addition: An overview, Bioresource Technology 230: 152–162.
- 53- Tartoura A.H. 2010. Alleviation of oxidative-stress induced by drought through application of compost in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 9(2): 208 - 16.
- 54- Torre S., Borochoy A., and Halevy A. H. 1999. Calcium regulation of senescence in roses. Physiology of Plant 107: 214-219.
- 55- Twongo T., and Balirwa J.S. 1995. The water hyacinth problem and the biological control option in the highland lake region of the upper Nile basin Uganda's experience. The Nile 2002. Conference, Arusha, Tanzania, 1-15 pp.
- 56- Vidya S., and Girish L. 2014. Water hyacinth as a green manure for organic farming. International Journal of Natural and Social Sciences 2: 65–72.
- 57- Wahing I.W. Van V.J.G. Houba J.J. Van der lee. 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi. Part 7, plant analysis procedure. Wageningen Agriculture University.
- 58- Zaghloul R.A., Mohamed Y.F.Y., Rasha M., El-Meihy. 2016. Influential cooperation between zeolite and PGPR on yield and antimicrobial activity of thyme essential oil. International Journal of Plant and Soil Science 13(1): 1–18.
- 59- Zhang Y., Guo W., Chen S., Han L., and Li Z. 2007. The role of N- lauroyl ethanol amine in the regulation of senescence of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*). Journal of Plant Physiology 164: 993-997.



Evaluation the Effect of Water Hyacinth and Humic Acid Compost on some Morphophysiological and Biochemical Properties of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus. cv. Artist)

F. Ghorbanalizade¹- M. Karimi^{*2}- K. Ghasemi³- M. Hatami⁴

Received: 26-05-2020

Accepted: 23-06-2020

Introduction: Water hyacinth (*Eichornia crassipes*) is one of the world's most prevalent invasive aquatic plants. Due to the environmental and economic concerns associated with the water hyacinth spread, control of this plant seems will be necessary. Composting is promising techniques for controlling water hyacinth. Humic acid is the fraction of naturally occurring organic materials, which derive from the decomposition of plant and animal residues. Humic acid plays important roles in plants through stimulation of root growth and increase of water and nutrient uptake by plants. In this study, we evaluated the effect of water hyacinth compost and humic acid on the vegetative and reproductive characteristics of gerbera flowers

Materials and Methods: The present study was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. The first factor was water hyacinth compost (0, 25, 50, 75 and 100% v/v) and the second factor was humic acid (0, 250 and 500 mg L⁻¹). The peat moss + perlite (2:1 v/v) was considered as a control treatment. To prepare water hyacinth compost, the water hyacinth was collected from a river in Sari, Mazandaran, Iran. Water hyacinth leaves were exposed to direct sunlight for eight hours to wither then chopped to fine pieces and eventually was spread on the surface. The thickness of leaves is five-centimeter. One centimeter thickness of animal manure was added on top of the water hyacinth leaves and then a layer of ash and lime respectively added. This step was repeated until the height of the layer reached to one meter, finally the top layer was covered with dry leaves of native trees and black polyethylene sheets. The mass was mixed up every 15 days to get a better result (uniform decomposition). Finally, after three months, the compost was prepared. Gerbera (cv. Artist) seedlings with uniform size (15 cm) were planted in plastic pots at different levels of compost. Humic acid was used once every ten days. The average day and night temperature in the greenhouse during the experiment was 17±2 and 23±2°C, respectively, and the average greenhouse humidity was 65 to 75%. Flowering time, number of flowers, number of leaves, stem length, flower stem diameter, flower disk diameter, fresh and dry weight of shoots and roots, phenol content, total chlorophyll and carotenoids, concentrations of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium in the leaves, ion leakage of petals and vase life were evaluated.

Result and Discussion: According to the results of the effect of compost, humic acid and their interaction on most of the studied characteristics were significant. The highest number of flowers with 117% increase compared to the control treatment was related to 50% compost + 500 mg L⁻¹ humic acid. In this treatment, the time of flower emergence occurred 40 days earlier than the control. The highest chlorophyll content with 155.52% increase compared to control was observed in 25% compost + 500% humic acid. Mineral elements in the leaf of the Gerbera plant were significantly affected by growth media and humic acid. The highest nitrogen content was found in 50% compost + 500 mg L⁻¹ humic acid (a 50% increase compared to control). The highest potassium content was observed in 50% compost + 250 mg L⁻¹ humic acid. The highest concentrations of calcium were found in the leaves of plants grown in 50% compost + 500 mg L⁻¹ humic acid. The highest vase life with a 71.67% increase compared to the control treatment was related to plants that were grown in 25% or 50% compost+ 500 mg L⁻¹ humic acid. The lowest ion leakage was recorded in 50% compost + 500% humic acid with 56.79% decrease compared to the control. In the present study, most of the growth media and humic acid significantly affected most of the Gerbera plant parameters. The best results were obtained from 25% and 50% compost +250, 500 mg L⁻¹ humic acid. Due to proper drainage, increased water retention, a pseudo hormonal compound such as auxin and increased absorption of elements, compost improve the chemical and physical structure of growing media. Also, high leaf nitrogen content was observed in most compost-containing substrates. This element plays a key role in vegetative growth. The concentration of nitrogen and phosphorus in

1, 2 and 3- M.Sc. Student and Assistant Professors, Department of Horticultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, respectively.

(*- Corresponding Author Email: karimi@sanru.ac.ir)

4- Associate Professor, Department of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran

compost is usually 5 to 11 times higher than soil which is gradually delivered to the plant and increases the growth and flowering of the plant. Humic acid plays important roles in plants through stimulation of root growth and increase of water and nutrient uptake by plants. In our study the application of humic acid at 250 and 500 mg L⁻¹ significantly increased concentration of nitrogen, phosphorus, calcium and potassium as compared with control. It has also been reported that humic acid provides growth regulators to regulate and control hormone levels in plants and stimulates the production of plant enzymes and hormones, which ultimately increases the vegetative and reproductive growth of the plant.

Conclusion: The results of this study showed that water hyacinth compost with humic acid due to improving the root environment and increasing the absorption of nutrients, increased quantitative, qualitative and vase life characteristics of *Gerbera* in comparison with control (peat + perlite). 50% compost was introduced as the best treatment in combination with concentrations of 250 and 500 mg L⁻¹ of humic acid.

Keywords: Flowering time, Elements, Growth media, Vase life



مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر غلظت‌های مختلف آهن و رژیم پلکانی آهن بر برخی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و خصوصیات گلدهی گیاه همیشه بهار

زینب ایزدی^۱ - عبدالحسین رضایی نژاد^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳

چکیده

به منظور بررسی اثرات افزایش تدریجی غلظت آهن در طی رشد گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، آزمایشی با سه تیمار آهن و ۴ تکرار در پاییز سال ۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام گرفت. تیمارها شامل غلظت ثابت ۴ و ۳۵ میکرومولار آهن (کلات آهن (III) - N, N - اتیلن دی آمین دی هیدروکسی فنیل استیک اسید (Fe(III)-EDDHA)) و تیمار سوم رژیم پلکانی بود که گیاهان در ابتدای کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۲۶ میکرومولار رسید. نتایج حاکی از آن بود که از نظر صفات حجم ریشه و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن برتری نشان دادند. اما بالاترین بیوماس مربوط به تیمار ۳۵ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی بود. در حالی که بیشترین شاخص کلروفیل a و b، کلروفیل a+b و کاروتنوئید، وزن خشک ریشه و گل، عمر گل، تعداد گل و وزن تر گل اول در گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن ملاحظه شد. به علاوه بالاترین و پایین‌ترین میزان فتوستنتر "در مرحله دوم اندازه‌گیری" (به ترتیب، ۱۲/۲ و ۴/۵ میکرومول بر متر مربع برثانیه) و تعرق (به ترتیب، ۱/۹ و ۰/۸ میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه) مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن بود. لذا رژیم پلکانی بعنوان روش مناسب جهت تغذیه آهن در گیاه همیشه بهار در کشت بدون خاک قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: پارامترهای فتوستنتری، رنگدانه‌های فتوستنتری، گیاهان زینتی

مقدمه

گیاهان در خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه خشک سراسر دنیا محسوب می‌شود (۲۰). به دلیل وجود بی‌کربنات در خاک‌های آهکی میزان آهن قابل استفاده برای گیاه در این خاک‌ها بسیار کم می‌باشد. کمبود آهن به عنوان یک اختلال تغذیه‌ای، کیفیت دامنه وسیعی از محصولات کشاورزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۷). آهن به عنوان یک ریزمغذی ضروری در گیاهان عالی شناخته شده است که در چندین پروسه متابولیک از جمله مسیر بیوستنتر کلروفیل نقش حیاتی بازی می‌کند و به عنوان اجزا تشکیل دهنده تعداد زیادی از پروتئین‌ها و آنزیم‌های مورد نیاز در طی فتوستنتر، تنفس و تثبیت ازت، مانند پروتئین‌های آهن - سولفور و پروتئین‌های آهن بدون هم^۳ می‌باشد (۷ و ۲۰). منابع ذخیره آهن در سلول کلروپلاست، میتوکندری و واکوئل هستند (۲). حدود ۸۰ درصد آهن برگ در کلروپلاست ذخیره شده است (۷). از آنجایی که وضعیت اکسیداسیون و احیا آهن به راحتی قابل تغییر است آهن نقش کلیدی در واکنش‌های بیوشیمیایی مانند

کمبود ریز مغذی‌ها یکی از شایع‌ترین معضلات کشاورزی در میلیون‌ها هکتار از زمین‌های قابل کشت مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. یکی از مهمترین نقایص خاک‌های ایران بویژه در مناطق جنوب ایران، قلیایی بودن آن است. وجود مقادیر زیاد یون کلسیم در خاک‌های قلیایی سبب ایجاد اختلال در جذب عناصر کم مصرف توسط گیاه می‌گردد (۱۸). علی‌رغم اینکه آهن چهارمین عنصر فراوان در پوسته‌ی زمین است، تنها میزان کمی از آهن در خاک‌هایی که از تهویه مناسبی برخوردارند برای گیاهان قابل استفاده است. بنابراین کمبود آهن یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده رشد و نمو

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

(*) نویسنده مسئول:

(Email: rezaeinejad.h@lu.ac.ir

DOI: 10.22067/jhorts4.v34i2.82363

انتقال الکترون و تغییرات پتانسیل احیا بازی می‌کند. ۶۰ درصد آهن ذخیره شده در کلروپلاست در زنجیره انتقال الکترون دخالت دارد (۲) و (۷). به همین جهت سطوح فلورسانس کلروفیلی و فعالیت فتوسنتزی گیاهان بطور قابل ملاحظه‌ای تحت شرایط کمبود آهن کاهش می‌یابد. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مثل سوپراکسیداز دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز نیز در شرایط کمبود آهن تغییر می‌کند. سوپراکسیداز دیسموتاز مهمترین جاروبگر^۱ سوپراکسید (O_2^-) در سیستم گیاهی است. در نتیجه فعالیت این آنزیم رادیکال سوپر اکسید به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود. در ادامه این پروسه پراکسیداز وارد عمل می‌گردد و پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند. از اینرو تحت شرایط کمبود آهن پروسه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در سیستم گیاه بطور جدی مختل می‌گردد (۷). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد هموستازی آهن، نمو گل و باروری گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. بررسی عناصر موجود در درختان زیتون^۲ نشان داد که بالاترین غلظت آهن در دوره تمایز گل در این گیاه وجود دارد (۲۸). بررسی اثر کمبود آهن بر روی درختان گلابی^۳ و هلو^۴ نشان داد کمبود آهن و کلروز پایدار منجر به تخلیه کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌شود و در نتیجه این امر توسعه جوانه گل و گلدهی در این گیاهان کاهش یافت (۴). اثر مثبت کوددهی آهن بر روی تولید گل در گونه‌های مختلف گیاهان زینتی مانند گیاه همیشه بهار (۵) به اثبات رسیده است، همچنین قطر گل (۳)، کمیت و کیفیت گل در بوته رز در نتیجه استفاده از کود آهن افزایش نشان داد (۱۷). بهبود ویژگی‌ها گل (تعداد ساقه گلدهنده در هر گیاه، طول ساقه گلدهنده و تعداد گلچه) در گلابول نیز در نتیجه استفاده از کود آهن گزارش شده است (۳۰).

جلوگیری یا اصلاح کلروز ناشی از کمبود آهن معمولاً بوسیله به‌کار بردن کودهای گران قیمت مثل کلات‌های سنتتیک آهن (III) صورت می‌گیرد (۸). توسعه مراحل رشد برای یک گیاه با تغییر در ساختار سلول، محتویات آب، بیوماس و وظایف سلول همراه است که در طی نمو گیاه جذب عناصر را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). ایزدی و همکاران (۹) به منظور بررسی اثر تقسیط آهن روی خصوصیات گلدهی همیشه بهار^۵ در کشت بدون خاک، مراحل رشد گیاه را به سه مرحله تقسیم کردند (مرحله اول: جوانه‌زنی بذر تا مرحله ۴-۶ برگ، مرحله دوم: مرحله ۶-۴ برگ تا ابتدای گلدهی و مرحله سوم: شروع گلدهی تا زمان پژمرده شدن گل) و رژیم‌های مختلف آهن با غلظت

۴ و ۳۵ میکرومولار آهن را برای هر یک از مراحل رشد در نظر گرفتند. نتایج نشان داد استفاده از آهن با غلظت ۴ میکرومولار در مرحله اول یا سوم رشد سبب کاهش معنی‌دار وزن و تعداد گل‌ها نشد. بطور برعکس استفاده از غلظت ۴ میکرومولار آهن در مرحله دوم رشد سبب کاهش وزن و تعداد گل‌ها شد که نشان می‌دهد، استفاده از غلظت ۴ میکرومولار آهن تنها در مرحله اول و سوم رشد گیاه قابل قبول است. استفاده از آهن با غلظت ۴ میکرومولار تنها در یکی از مراحل مرحله اول و سوم یا هر دو مرحله به ترتیب سبب کاهش ۲۹-۲۰ درصدی و ۴۸ درصدی مصرف آهن می‌گردد.

مطالعات زیادی در مورد تقسیط سایر مواد غذایی از جمله نیتروژن (۲۷) و پتاسیم (۱۵) وجود دارد ولی تحقیقات زیادی در مورد تقسیط آهن در مراحل مختلف رشد بویژه در گیاهان زینتی وجود ندارد. تحقیق حاضر به منظور درک اهمیت افزایش تدریجی غلظت آهن همگام با توسعه مراحل نمو در گیاه زینتی و دارویی همیشه بهار (*Calendula officinalis*) صورت گرفت. از اهداف دیگر این تحقیق کاهش هزینه‌های تولید و کاهش میزان آلودگی‌های محیط زیست از طریق کاهش مصرف آهن در مراحل اولیه نمو گیاه همیشه بهار است. در نهایت نتایج این تحقیق می‌تواند محققان تغذیه گیاهی را تشویق نماید تا نحوه و میزان مصرف آهن را در سایر گیاهان زینتی مورد بررسی قرار دهند.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و چهار تکرار، در پاییز سال ۱۳۹۶ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان با میانگین دمای روزانه و شبانه حدود ۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد و شدت نور 100 ± 500 میکرومول بر متر مربع بر ثانیه انجام شد. در طی انجام این آزمایش بذور نسل F1 همیشه بهار (*Calendula officinalis* L., cv. 'Yellow Gitana') از شرکت هم زادن بی وی^۶ هلند تهیه شدند و در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر به روش کشت بدون خاک (بستر متخلخل^۷) کشت شدند. بستر کشت مورد استفاده از مخلوط ماسه اسید شور شده و پرلایت (۱:۱) بود. لازم به ذکر است در هر گلدان سه بذر کشت شد و در مرحله دو برگ حقیقی، قوی‌ترین گیاه نگهداری شد و بقیه گیاهان حذف شدند. بلافاصله بعد از کشت بذور هر گلدان بطور روزانه ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول غذایی نیم هوگلدن دریافت کرد. نوع کلات آهن مورد استفاده در این محلول غذایی Fe(III)-EDDHA بود. از نظر غلظت آهن دریافتی گیاهان به سه دسته تقسیم شدند، به ترتیب دسته اول و

1- Scavenger

2- *Olea europaea*3- *Pyrus communis*4- *Prunus persica*5- *Calendula officinalis* L., cv. 'Yellow Gitana'

6- HEM ZADEN BV, Netherlands

7- Soilless culture

زمان تقریباً ۹۰۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه تابش فعال فتوسنتزی و میزان دی اکسید کربن حدود ۳۶۰ میکرولیتر در لیتر بود. در طول اندازه‌گیری دمای محیط گلخانه ۲۴ درجه سانتی‌گراد و دمای اتاق حدود ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1.3) انجام شد. میانگین داده‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بررسی جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین رژیم‌های مختلف آهن از نظر حجم ریشه و وزن خشک ریشه در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). بالاترین حجم ریشه (۲۵/۸ میلی‌لیتر در گیاه) مربوط به گیاهانی بود که در تمام دوره آزمایش غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و کمترین حجم ریشه (۱۴/۵ میلی‌لیتر در گیاه) در گیاهانی که تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن بودند، مشاهده گردید. در بین تیمارهای ذکر شده بالاترین و پایین‌ترین وزن خشک ریشه (۳/۵ و ۱/۸ گرم) به‌ترتیب در گیاهانی که تحت رژیم پلکانی آهن و ۳۵ میکرومولار آهن بودند ثبت گردید (جدول ۲). توسعه تارهای کشنده ریشه تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی قرار دارد. تحت شرایط کمبود آهن گیاهان "استراتژی I" که شامل گیاهان دولپه و گیاهان تک لپه غیر گرمسینه هستند، تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در ریشه‌هایشان ایجاد می‌گردد که از مکانیسم‌های مورفولوژیکی ایجاد شده در این گیاهان برای افزایش جذب آهن می‌توان به افزایش تشکیل تارهای کشنده و سلول‌های معبر^۱ اشاره کرد. هورمون‌های گیاهی بویژه اتیلن و اکسین در شرایط کمبود آهن افزایش پیدا می‌کنند، نقش مهمی را در تعیین سرنوشت سلول‌های اپیدرم ریشه ایفا می‌کنند. برای مثال، تیمار گیاهانی که تحت شرایط کمبود آهن قرار داشتند با اکسین منجر به توسعه تارهای کشنده گردید، به طوری که اکسین از طریق تحریک سنتز اتیلن این فرایند را کنترل می‌کند. در حالی که اکسین در موتانت-های غیر حساس به اتیلن تولید تارهای کشنده ریشه را تحت تأثیر قرار نداد (۲۲).

ایزدی و همکاران (۹) اثر رژیم‌های مختلف آهن را در مراحل مختلف رشد (مرحله اول: جوانه‌زنی بذر تا مرحله ۴-۶ برگی، مرحله دوم: مرحله ۶-۴ برگی تا ابتدای گلدهی و مرحله سوم: شروع گلدهی تا زمان پژمرده شدن گل) گیاه همیشه بهار مورد بررسی قرار دادند و دریافتند گیاهانی که در دو مرحله یا کلیه مراحل رشد آهن با غلظت ۴ میکرومولار دریافت کردند بالاترین حجم ریشه را تولید کردند.

دوم از ابتدا تا انتهای آزمایش غلظت ۴ و ۳۵ میکرومولار آهن را دریافت کردند. دسته سوم شامل گیاهانی بود که بلافاصله بعد از کاشت بذر به مدت یک هفته غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و از آن به بعد ۲ میکرومولار به غلظت آهن دریافتی به طور هفتگی اضافه می‌شد تا زمانی که در انتهای آزمایش غلظت آهن دریافتی در این گیاهان به ۲۶ میکرومولار رسید. لازم به ذکر است در ادامه از این تیمار با نام رژیم پلکانی نامبرده می‌شود. بعد از آماده‌سازی محلول غذایی، ۵ میلی‌مولار کربنات کلسیم و بیست میلی‌مولار بی‌کربنات سدیم جهت شبیه سازی pH محیط کشت به شرایط موجود در خاک‌های قلیایی موجود در سطح زمین که منجر به کاهش جذب آهن از خاک می‌گردد، به محلول غذایی اضافه شد تا pH محلول غذایی به 7.0 ± 0.1 برسد. بعد از گذشت ۱۲ هفته، در مرحله گلدهی گیاهان شاخص‌های زیر مورد بررسی قرار گرفت. این ویژگی‌ها شامل بیوماس کل، حجم ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد گل، قطر گل (اندازه‌گیری توسط کولیس دیجیتالی)، تعداد ردیف گلبرگ و عمر گل بود. به منظور اندازه‌گیری حجم ریشه، ریشه مربوط به هر گیاه جدا و به دقت مورد شستشو قرار گرفت. از اختلاف حجم آب در قبل و بعد از اضافه کردن ریشه بعنوان حجم ریشه گزارش گردید (۱۸). برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیختن هالر (۱۴) استفاده شد و در نهایت میزان جذب نور نمونه‌ها با سه طول موج ۴۷۰، ۶۴۵ و ۶۶۲ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Mapada UV-1800, Shanghai, P.R. China) ثبت شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش مک‌آدام و همکاران (۱۶)، استفاده شد. بعد از تهیه عصاره به روش مذکور، برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه، به مدت دو دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۴۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. با استفاده از روش بوج و آست (۶) پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس غلظت مالون دی‌آلدهید تولید شده در اثر آسیب به غشا و واکنش با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. بعد از تهیه عصاره، قرائت نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ و ۵۳۲ نانومتر صورت گرفت. میزان فتوسنتز، تعرق، میزان دی اکسید کربن اتاقک زیر روزنه و مقاومت روزنه‌ای در دو مرحله از مراحل رشد گیاه (مرحله اول: گیاهان تحت رژیم پلکانی، در حال دریافت غلظت ۱۶ میکرومولار آهن بودند و مرحله دوم: گیاهان تحت رژیم پلکانی، در حال دریافت غلظت ۲۶ میکرومولار آهن بودند) روی برگ‌های جوان که به‌طور کامل توسعه پیدا کرده بودند، توسط دستگاه اندازه‌گیری فتوسنتز (ساخت کشور انگلستان مدل LCA4, ADC Bioscientific, Ltd Hoddesdon) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بدین منظور هر برگ به مدت ۶۰ ثانیه درون اتاقک اندازه‌گیری تبادلات گازی برگ قرار گرفت. اندازه‌گیری در روز صاف و آفتابی بین ساعت ۹-۱۱ صورت گرفت که شدت نور در این

حالی که گیاهانی که در دو مرحله یا کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار دریافت کردند پایین ترین میزان حجم ریشه را تولید کردند. در تحقیق حاضر نیز استفاده از غلظت پایین آهن (۴ میکرومولار) سبب افزایش حجم ریشه گردید. نکته قابل توجه در این بین، حجم ریشه در گیاهان تحت رژیم پلکانی می باشد که افزایش تدریجی آهن در طی دوره رشد منجر به ایجاد حجم ریشه متوسط در مقایسه با تیمار غلظت پایین و بالای آهن گردید (جدول ۲)، که می تواند سطح جذب آب و مواد غذایی را برای گیاهان تحت این تیمار افزایش دهد.

در تحقیق حاضر بیوماس کل نیز تحت تاثیر رژیم های مختلف آهن قرار گرفت. به طوری که بالاترین بیوماس کل با میانگین ۱۹۱/۳ و ۱۸۶/۶ گرم به ترتیب مربوط به دو تیمار رژیم پلکانی و ۳۵ میکرومولار آهن بود (جدول ۲). از آنجایی که آهن به عنوان یک ریز مغذی ضروری نقش مهمی در فتوسنتز در گیاهان عالی بازی می کند، هموستازی آهن به عنوان فاکتور کلیدی می تواند زیست توده و کیفیت محصول را در گیاه تحت تاثیر قرار دهد. کمبود آهن می تواند سبب زرد شدن برگ های جوان و کاهش رشد گیاه گردد (۲۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی، گلدهی و بیوشیمیایی گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم های مختلف آهن

Table 1- ANOVA for morphological, flowering and biochemical characteristics of *Calendula officinalis* under different Iron (Fe) regimes

مالون دی آلدئید	فعالیت آنزیم پراکسیداز	کاروتنوئید	کلروفیل a+b	کلروفیل b	کلروفیل a	قطر گل	وزن تر گل اول	عمر گل	تعداد گل	بیوماس کل	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	درجه آزادی	منابع تغییرات
Malondialdehyde	Peroxidase activity	Carotenoid	Chl a+b	Chl b	Chl a	Flower diameter	First flower fresh weight	Flower longevity	Number of flowers	Total biomass	Root dry weight	Root volume	Df	S.O.V
0.811*	0.058*	0.776*	9*	0.725*	4.9*	1076*	10.5*	39.6*	57.8*	1632.2*	3.2*	127.1*	2	غلظت آهن Fe concentration
0.159	0.001	0.016	0.574	0.164	0.321	11.1	0.46	1.8	2.4	319.4	0.186	76.1	9	خطا Error
16.9	10.9	8.8	9.3	21.2	9.1	4.5	10	13.3	7	10.1	16.6	13.6		ضریب تغییرات C.V (%)

ns، *: معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار.

*, ns: significant at 5 % of probability level, and non-significant, respectively.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی و گلدهی در گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم های مختلف آهن

Table 2- Morphological and flowering characteristics of *Calendula officinalis* under different Iron regimes

قطر گل	تعداد ردیف گلبرگی	وزن تر گل اول	عمر گل	تعداد گل	بیوماس کل	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	رژیم های مختلف آهن (میکرومولار)
Flower diameter (mm)	Petal row number	First flower fresh weight (g)	Flower longevity (day)	Number of flowers	Total biomass (g)	Root dry weight (g)	Root volume (ml/Plant)	Different iron regimes (μM)
55.7 ^c	10 ^b	5.3 ^c	7.3 ^c	18 ^c	154.2 ^b	2.5 ^b	25.8 ^a	4
86.7 ^a	13.5 ^a	8.5 ^a	13.5 ^a	25.5 ^a	191.3 ^a	3.5 ^a	20.8 ^b	رژیم پلکانی* Staircase regime
80.5 ^b	13 ^a	6.6 ^b	9.8 ^b	22.75 ^b	186.6 ^a	1.8 ^c	14.5 ^c	35

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر ردیف در سطح پنج درصد اختلاف معنی دار با استفاده از آزمون LSD دارند.

In each column, means follow by the different letter are significantly different based on LSD test.

* رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته ۲ میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 μM Fe then 2 μM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 μM.

کربوهیدرات‌ها از عوامل دخیل در این امر می‌باشد (۳، ۵، ۱۷ و ۳۰). اگرچه میزان تولید اتیلن در این گیاه مورد اندازه‌گیری قرار نگرفت اما طبق گزارشات ذکر شده تولید اتیلن یکی از مکانسیم‌های گیاهان جهت مقابله با کمبود آهن است که خود می‌تواند از عوامل موثر در کاهش طول عمر گل در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن باشد. از سوی دیگر گیاهان تحت رژیم پلکانی در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را داشتند (شکل ۱ و ۲) که خود منجر به افزایش فراورده‌های فتوسنتزی می‌شود که می‌تواند در افزایش عمر گل، کیفیت و کمیت گل در گیاهان تحت این رژیم موثر باشد.

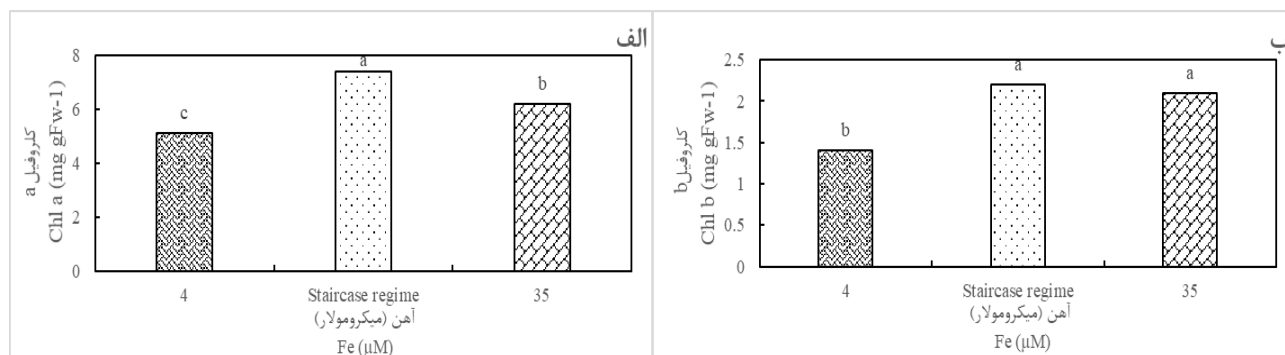
بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه همیشه بهار به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای مختلف آهن قرار گرفت (جدول ۱). بالاترین و پایین‌ترین میزان کلروفیل a (۵/۱ و ۴/۷ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر)، کلروفیل a+b (۹/۶-۶/۶ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) و کاروتنوئید (۱/۹-۱/۱ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) به ترتیب در گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن و گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن مشاهده گردید (شکل ۱ و ۲). تیمار ۳۵ میکرومولار آهن از نظر کلروفیل a، کلروفیل a+b و کاروتنوئید حدواسط دو تیمار دیگر بود. بالاترین میزان کلروفیل b در گیاهان تحت تیمار رژیم پلکانی و گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن مشاهده شد. از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین میزان کلروفیل b در این دو تیمار وجود نداشت. گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن در پایین‌ترین سطح از نظر میزان کلروفیل b (۱/۴ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) قرار داشتند (شکل ۱ و ۲).

آهن عنصر کلیدی در مسیر بیوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید می‌باشد. کمبود آهن از طریق کاهش سنتز اس-آمینولولینیک اسید^۱ و پروتوکلروفیلاد سبب کاهش سنتز کلروفیل و کاروتنوئید و ظهور علائم کلروز در بادام زمینی گردید (۱۱). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد افزایش تدریجی آهن همزمان با رشد گیاه بهتر می‌تواند منجر به افزایش سنتز کلروفیل گردد.

همچنین گزارش شده است که مراحل رشد و نمو گیاه با تغییر در ساختار سلول، محتویات آب و بیوماس همراه است که این تغییرات نحوه جذب مواد غذایی را در تمام دوره رشد و نمو گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۲). در تحقیق حاضر استفاده از غلظت ۳۵ میکرومولار از ابتدای کشت گیاه غلظت مطلوبی به نظر نمی‌رسد و لازم است گیاه در ابتدا غلظت‌های پایین‌تری از آهن را دریافت کند. افزایش تدریجی غلظت آهن منجر به بهبود سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد که نقش مهمی را در رشد و نمو گیاه دارد.

بررسی اثر تقسیط آهن روی خصوصیات فیزیو-مورفولوژیکی و بیوشیمیایی همیشه بهار در مراحل مختلف رشد نشان داد، استفاده از آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار در کلیه مراحل رشد (۳۵-۳۵-۳۵) گیاه همیشه بهار سبب ایجاد بالاترین میزان وزن خشک گیاه شد و گیاهانی که تنها در یک مرحله رشد آهن با غلظت ۴ میکرومولار دریافت کردند (۳۵-۳۵-۴، ۳۵-۴-۳۵، ۳۵-۳۵-۴) از نظر وزن خشک با گیاهانی که در کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار دریافت کردند تفاوتی نداشتند (۹). آبادیا و همکاران (۱) گزارش کردند استفاده از کودهای آهن به صورت کاربرد خاکی و آب آبیاری موجب افزایش آهن قابل جذب و انتقال آن به اندام‌های هوایی گیاه می‌گردد که این امر در نهایت منجر به افزایش تولید شاخه، برگ، و همچنین دانه در گیاه می‌شود. روستا و همکاران (۲۳) نیز اثر سوء کمبود آهن را بر خصوصیات رشدی گیاهان از جمله تعداد برگ و ماده خشک گزارش کردند که مطابق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد.

بررسی جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین تیمارهای مورد بررسی از نظر خصوصیات گل شامل وزن‌تر گل اول، تعداد گل، قطر گل، تعداد ردیف گلبرگ و عمر گل تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان وزن‌تر گل اول، تعداد گل، قطر گل و عمر گل در گیاهان تحت رژیم پلکانی (به ترتیب، ۸/۵ گرم، ۲۵/۵، ۸۶/۷ میلی‌متر، ۱۳/۵ روز) و ۴ میکرومولار آهن (۵/۳ گرم، ۱۸، ۵۵/۷ میلی‌متر و ۷/۳ روز) دیده شد. گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار از نظر این ویژگی‌ها حد واسط دو تیمار دیگر بودند. قابل ذکر است بالاترین تعداد ردیف گلبرگ در گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی مشاهده گردید و پایین‌ترین تعداد ردیف گلبرگ در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن دیده شد (جدول ۲). هموستازی آهن نقش مهمی را در کنترل رشد و نمو گل در گیاه دارد. بررسی اثر کاربرد آهن روی خصوصیات مورفولوژیکی و عملکرد گل در گیاه همیشه بهار نشان داد، وجود آهن کافی منجر به بهبود خصوصیات مورفولوژیکی و افزایش میزان عملکرد گل گردید (۲۱). هورمون‌هایی مانند اتیلن و آبسیزیک اسید در شرایط کمبود آهن در سیگنال‌دهی نقش ایفا می‌کنند (۳۱). همچنین این هورمون‌ها در بیان ژن‌های دخیل در پروسه پیری در گیاه نقش دارند. بررسی نقش اتیلن در کنترل پروسه پیری در گیاه میخک نشان می‌دهد که تولید اتیلن و پژمردگی گل بطور همزمان رخ می‌دهند، بدین ترتیب اتیلن نقش مهمی در پیر شدن گل ایفا می‌کند (۲۵). در تحقیق حاضر نیز در گیاهان تحت کمبود آهن (۴ میکرومولار) پایین‌ترین میزان تعداد گل، کیفیت گل و عمر گل مشاهده شد که با نتایج ایزدی و همکاران مطابقت داشت (۹). با توجه به نتایج حاصل از تحقیقات پیشین کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز و سنتز

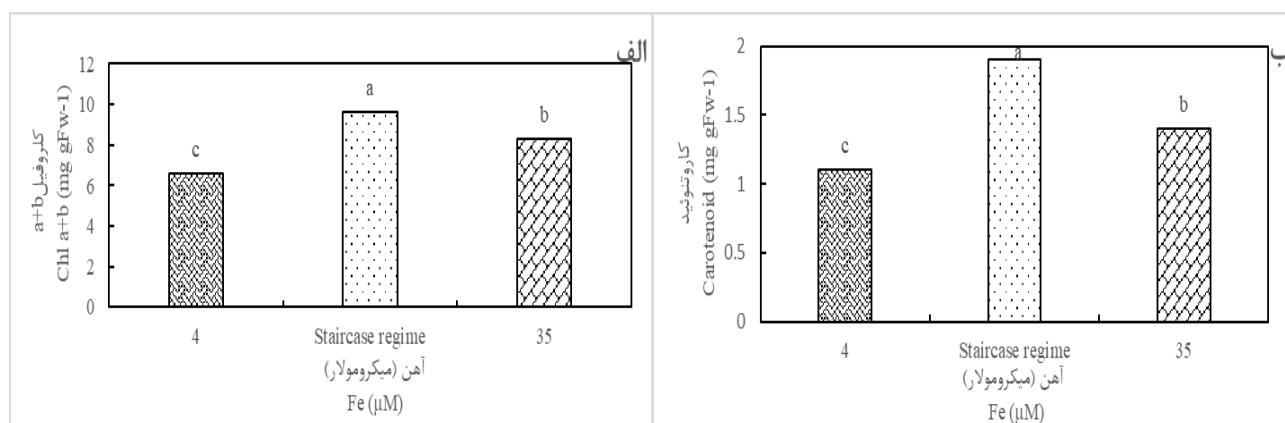


شکل ۱- غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (الف: کلروفیل a؛ ب: کلروفیل b) در گل همیشه بهار

Figure 1- Leaf photosynthetic pigment concentrations (a: Chl a; b: Chl b) in *Calendula officinalis* (LSD, $p \leq 0.05$)

* رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 μM Fe then 2 μM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 μM.



شکل ۲- غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (الف: کلروفیل a+b؛ ب: کاروتنوئید) در گل همیشه بهار

Figure 2- Leaf photosynthetic pigment concentrations (a: Chl a+b; b: Carotenoid) in *Calendula officinalis* (LSD, $p \leq 0.05$)

* رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

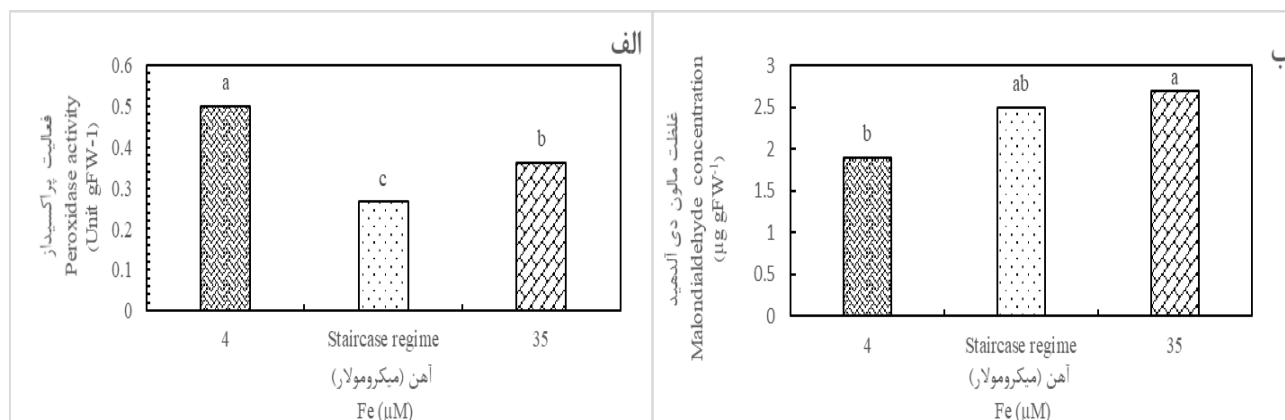
Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 μM Fe then 2 μM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 μM.

(۱۰). بررسی اثر اسیدآسکوربیک بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه شمعدانی معطر^۱ تحت غلظت‌های مختلف آهن (۲۰، ۴۰ و ۶۰ میکرومولار) نشان داد کاهش میزان آهن باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. استفاده از اسید آسکوربیک در گیاهان تحت تیمار صفر میکرومولار آهن منجر به کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، در حالی که در غلظت‌های بالاتر آهن تیمار آسکوربیک اسید منجر به افزایش فعالیت این آنزیم شد (۲۶) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت به طوری که استفاده از غلظت ۴ میکرومولار سبب ثبت بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز شد.

اثر تیمارهای مختلف آهن بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۲۶۶ - ۰/۵ واحد بر گرم وزن تر) به ترتیب در گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار و رژیم پلکانی دیده شد. کمبود آهن در گیاه به عنوان یک تنش غیر زنده محسوب می‌شود که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد.

گونه‌های فعال اکسیژن مولکول‌های واکنش‌پذیری هستند که می‌توانند پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را اکسید کنند. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی یکی از مکانیسم‌های گیاه برای مقابله و کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن هستند

1- *Pelargonium graveolens* L.



شکل ۳- فعالیت آنزیم پراکسیداز (الف) و غلظت مالون دی آلدئید (ب) در عصاره برگ همیشه بهار

Figure 3- Peroxidase activity (a) and Malondialdehyde concentration in leaf extracts of *Calendula officinalis* (LSD, p ≤ 0.05)

* رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

Staircase regime: plants under this regime, at first week, received 4 μM Fe then 2 μM was added to Fe concentration weekly, to reach 30 μM.

ثانیه و ۳۸۳/۹ - ۱۶۹/۲ میلی گرم در لیتر بود. بالاترین و پایین‌ترین میزان فتوسنتز، تعرق به ترتیب مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی و ۴ میکرومولار بود و بالعکس بالاترین و پایین‌ترین مقاومت روزنه‌ای و میزان دی اکسید کربن داخلی به ترتیب در گیاهان رشد یافته تحت غلظت ۴ میکرومولار آهن و رژیم پلکانی دیده شد. قابل ذکر است که در خصوص کلیه پارامترهای مربوط به تبادلات گازی گیاهان تحت تیمار ۳۵ میکرومولار حد واسط دو تیمار دیگر بودند (جدول ۴). در مرحله دوم نیز بررسی میزان فتوسنتز، تعرق، مقاومت روزنه‌ای و میزان دی اکسید کربن داخلی به ترتیب در محدوده ۴/۵ - ۱۲/۲ میکرومول بر متر مربع برثانیه، ۰/۸ - ۱/۹ میلی مول بر متر مربع برثانیه، ۱۳ - ۲۹/۷ مول بر متر مربع بر ثانیه و ۱۲۰/۵ - ۱۶۹/۲ میلی گرم در لیتر قرار داشتند. گیاهان رشد یافته تحت رژیم پلکانی بالاترین میزان فتوسنتز و تعرق و پایین ترین میزان مقاومت روزنه‌ای و میزان دی اکسید کربن را داشتند. گیاهان رشد یافته تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن پایین ترین میزان فتوسنتز و تعرق و بالاترین میزان مقاومت روزنه ای و میزان دی اکسید کربن را داشتند. به جز در مورد تعرق که بین گیاهان رشد یافته تحت رژیم پلکانی و غلظت ۳۵ میکرومولار آهن از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت، در بقیه موارد این تیمار حدواسط دو تیمار دیگر بود (جدول ۴). آهن بعنوان فاکتور کلیدی پروسه‌های متابولیکی مانند سنتز رنگیزه، ساختار کلروپلاست، فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و زنجیره انتقال الکترون در فتوسنتز ایفا می‌کند (۲۹).

نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از معنی دار بودن اثر تیمارهای آهن بر میزان مالون دی آلدئید برگ گیاه همیشه بهار می‌باشد (جدول ۱). به طوری که بالاترین میزان مالون دی آلدئید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۳۵ و رژیم پلکانی آهن (۲/۷ و ۲/۵ میکروگرم در گرم وزن تر) بود و پایین ترین میزان مالون دی آلدئید مربوط به گیاهان تحت تیمار ۴ میکرومولار آهن بود (۱/۹ میکروگرم در گرم وزن تر) و از نظر آماری تفاوت معنی داری بین میزان مالون دی آلدئید در تیمار ۳۵ میکرومولار آهن با رژیم پلکانی آهن نبود (شکل ۳). مالون دی آلدئید در نتیجه تخریب و پراکسیداسیون غشاء سلولی در نتیجه فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد، بنابراین بررسی غلظت مالون دی آلدئید بافت گیاهی به عنوان شاخص میزان تخریب غشاء سلولی و نشت یونی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی رشد گندم تحت شرایط آهن زیاد نشان داد غلظت‌های بالای آهن منجر به افزایش میزان مالون دی آلدئید در این گیاه می‌شود (۱۳). اگرچه غلظت مورد استفاده آهن در این تحقیق غلظت بالاتر از حد مجاز نبود ولی نتایج به خوبی اثر افزایش غلظت آهن را بر افزایش میزان تولید مالون دی آلدئید نشان دادند که با نتایج تحقیق ذکر شده در تطابق بود.

نتایج آنالیز واریانس بررسی تبادلات گازی گیاهان تحت تیمارهای مختلف آهن در جدول ۳ گزارش گردید. نتایج مقایسه میانگین بررسی تبادلات گازی نشان داد در مرحله اول بررسی میزان فتوسنتز، تعرق، مقاومت روزنه‌ای و میزان دی اکسید کربن زیر روزنه به ترتیب در محدوده ۵/۱ - ۱۳/۷ میکرومول بر متر مربع برثانیه، ۳/۲ - ۱/۹ میلی مول بر متر مربع برثانیه، ۱۰/۵ - ۴/۸ مول بر متر مربع بر

جدول ۳- تجزیه واریانس اندازه‌گیری تبادلات گازی گیاه همیشه بهار تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن
Table 3- Gas exchange measurements of *Calendula officinalis* under different Iron regimes

منابع تغییرات	درجه آزادی	فتوستنتز	تعرق	مقاومت روزنه‌ای	دی اکسید کربن داخلی
S.O.V	Df	Photosynthesis	Transpiration	Stomatal resistance	Internal CO ₂
غلظت آهن Fe concentration	2	58.62*	1.22*	24.8*	35423.73*
خطا Error	6	1.18	0.19	0.34	662.22
ضریب تغییرات C.V (%)		10.9	17.7	8	9.6

*, ns: معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی دار.

*, ns: significant at 5 % of probability level, and non-significant, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اندازه‌گیری تبادلات گازی گیاه همیشه بهار در دو مرحله (مرحله اول: گیاهان تحت رژیم پلکانی در حال دریافت غلظت ۱۶ میکرومولار آهن بودند و مرحله دوم: گیاهان تحت رژیم پلکانی در حال دریافت غلظت ۲۶ میکرومولار آهن بودند) تحت تاثیر رژیم‌های مختلف آهن

Table 4- Means comparison of gas exchange measurements of *Calendula officinalis* in two stages (Stage 1: plants under Staircase regime received 16 μM Fe and Stage 2: plants under Staircase regime received 26 μM Fe) under different Iron regimes

مرحله اول Stage 1				مرحله دوم Stage2			
رژیم‌های مختلف آهن	فتوستنتز	تعرق	مقاومت روزنه‌ای	دی اکسید کربن داخلی	فتوستنتز	تعرق	مقاومت روزنه‌ای
Different iron regimes (μM)	Photosynthesis rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Stomatal resistance ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Internal CO ₂ (ppm)	Photosynthesis rate ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Transpiration rate ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Stomatal resistance ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
4	5.1 ^c	1.9 ^b	10.5 ^a	383.9 ^a	4.5 ^c	0.8 ^b	29.7 ^a
رژیم پلکانی* Staircase regime	13.7 ^a	3.2 ^a	4.8 ^c	169.2 ^c	12.2 ^a	1.9 ^a	13 ^c
35	11 ^b	2.4 ^{ab}	6.7 ^b	247.4 ^b	9 ^b	1.5 ^a	18.9 ^b

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ردیف با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری دارند.

In each column, means follow by the different letter are significantly different based on LSD.

* رژیم پلکانی: گیاهان تحت این رژیم در هفته اول کشت غلظت ۴ میکرومولار آهن را دریافت کردند و هر هفته دو میکرومولار به غلظت آهن دریافتی اضافه می‌شد. در نهایت غلظت آهن دریافتی به ۳۰ میکرومولار رسید.

مختل می‌گردد، این در حالی است که استفاده از آهن سبب تسکین کاهش فعالیت فتوسنتزی ناشی از کادمیوم شد (۱۲). بررسی نقش آهن در میزان فتوستنتز و آسیمیلایون نیتروژن در جلبک سبز^۱ نشان داد

کارایی فتوستنتز به شدت به تغذیه آهن وابسته است. همچنین کمبود آهن از طریق کاهش انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون

ایزدی و همکاران (۹) در تحقیق که روی بررسی اثر تقسیط آهن در گیاه همیشه بهار انجام دادند، دریافتند استفاده از آهن با غلظت ۳۵ میکرومولار در کلیه مراحل رشد (۳۵-۳۵-۳۵) و یا دو مرحله از مراحل رشد گیاه (۳۵-۳۵-۴، ۳۵-۳۵-۴، ۳۵-۴-۳۵) سبب شد تا میزان فتوستنتز و تعرق در این گیاهان بالاتر از گیاهانی باشد که در دو مرحله (۴-۴-۳۵، ۴-۳۵-۴، ۴-۴-۳۵) یا کلیه مراحل رشد خود آهن با غلظت ۴ میکرومولار (۴-۴-۴) دریافت کردند. بررسی اثر آهن و کادمیوم بر فتوستنتز نشان داد فعالیت فتوستنتزی گیاه توسط کادمیوم

قرار دهد که به تبع بهبود این شاخص‌ها منجر به افزایش کمیت و کیفیت گل در گیاه همیشه بهار گردد. افزایش کیفیت و کمیت گل یکی از فاکتورهای مهم مورد توجه در زمینه تولید گیاهان زینتی می‌باشد. از آنجایی که کودها و کلات‌های آهن ترکیباتی گران قیمت هستند، تهیه آن‌ها توسط تولیدکنندگان، منجر به افزایش هزینه تولید محصول می‌گردد، افزایش تدریجی آهن در طی رشد به منزله کاهش مصرف این کود و کاهش هزینه‌های تولید گیاهان زینتی می‌باشد. از سوی دیگر یکی از مهمترین نگرانی‌های بشر آلودگی خاک‌های کشاورزی با انواع کودهای شیمیایی است که استفاده از رژیم پلکانی آهن در نتیجه کاهش مصرف کود به کاهش آلودگی محیط زیست کمک شایانی خواهد کرد.

همچنین کاهش جریان انرژی حاصل از فتوسنتز می‌گردد (۲۹). در تحقیق حاضر بالاترین میزان فتوسنتز مربوط به گیاهان تحت رژیم پلکانی آهن بود، از آنجایی که آهن در این تیمار موجب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید به تبع میزان فتوسنتز نیز در این گیاهان افزایش پیدا کرد. نتایج رگرسیون خطی نشان داد به ترتیب کلروفیل a، کلروفیل a+b و کاروتنوئید با قدرت تبیین کنندگی (R²) ۰/۷۳، ۰/۸ و ۰/۷۶ قادر به تبیین واریانس فتوسنتز است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشخص شد که افزایش تدریجی غلظت آهن در طی روند رشد گیاه می‌تواند شاخص‌های مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه را به طور مطلوبی تحت تاثیر

منابع

- 1- Abadia J., Vazquez S., Rellan-Alvarez R., El-Jendoubi H., Abadía A., Alvarez-Fernandez A., and Lopez-Millan A.F. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 471-482.
- 2- Adamski J.M., Danieloski R., Deuner S., Braga E.J., de Castro L.A., and Peters J.A. 2012. Responses to excess iron in sweet potato: impacts on growth, enzyme activities, mineral concentrations, and anatomy. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 1827-1836.
- 3- Ahmad I., Khan M.A., Qasim M., Ahmad R., and Randhawa M.A. 2010. Growth, yield and quality of *Rosa hybrida* L. as influenced by various micronutrients. *Pakistan Journal of Agriculture* 47: 5-12.
- 4- Álvarez-Fernández A., Abadía J., and Abadía A. 2006. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. In: Barton L.L., Abadia J (eds) *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms*, Springer, Dordrecht 85-101.
- 5- Amuamuha L., Pirzad A., and Hadi H. 2012. Effect of varying concentrations and time of Nano-iron foliar application on the yield and essential oil of *Pot marigold*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 3: 2085-2090.
- 6- Buege J.A., and Aust S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzyme* 52: 302-310.
- 7- Chakraborty B., Singh P.N., Shukla A., and Mishra D.S. 2012. Physiological and biochemical adjustment of iron chlorosis affected low-chill peach cultivars supplied with different iron sources. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 18: 141-148.
- 8- El-Jendoubi H., Vazquez S., Calatayud A., Vavpetic P., Vogel-Mikus K., Pelicon P., Abadia J., Abadia A., and Morales F. 2014. The effects of foliar fertilization with iron sulfate in chlorotic leaves are limited to the treated area. A study with peach trees (*Prunus persica* L. Batsch) grown in the field and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) grown in hydroponics. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-16.
- 9- Izadi Z., Rezaei Nejad A., and Abadia J. 2020. Physio-morphological and biochemical responses of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) to split iron nutrition. *Acta Physiologiae Plantarum* 42: 1-14.
- 10- Kabir A.H., Rahman M.M., Haider S.A., and Paul N.K. 2015. Mechanisms associated with differential tolerance to Fe deficiency in okra (*Abelmoschus esculentus* Moench). *Environmental and Experimental Botany* 112: 16-26.
- 11- Kong J., Dong Y., Xu L., Liu S., and Bai X. 2014. Role of exogenous nitric oxide in alleviating iron deficiency induced peanut chlorosis on calcareous soil. *Journal of Plant Interactions* 9: 450-459.
- 12- Li D., Wang C., Liu W., Peng Z., Huang S., Huang J., and Chen S. 2016. Estimation of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) leaf nitrogen content at different growth stages using canopy reflectance spectra. *European Journal of Agronomy* 80:182-194.
- 13- Li X., Ma H., Jia P., Wang J., Jia L., Zhang T., Yang Y., Chen H., and Wei X. 2012. Responses of seedling growth and antioxidant activity to excess iron and copper in *Triticum aestivum* L. *Ecotoxicology and Environment Safety* 86: 47-53.
- 14- Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- 15- Lu Y., Yang X., Li R., Li S., and Tong Y. 2015. Effects of different potassium fertilizer application periods on the

- yield and quality of Fuji apple. Chinese Journal of Applied Ecology 26: 1179-1185.
- 16- MacAdam J.W., Nelson C.J., and Sharp R.E. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiology 99: 872-878.
 - 17- Memon S.A., Abdul R., Muhammad A., and Mahmooda B. 2013. Effect of zinc sulphate and iron sulphate on the growth and flower production of gladiolus (*Gladiolus hortulanus*). Journal of Agricultural Technology 9: 1621-163.
 - 18- Najafi-Ghiri M., Ghasemi-Fasaei R., and Farrokhnejad E. 2013. Factors affecting micronutrient availability in calcareous soils of Southern Iran. Arid Land Research and Management 27: 203-215.
 - 19- Pang W., Crow W., Luc J., McSorley R., Giblin-Davis R., Kenworthy K., and Kruse J. 2011. Comparison of water displacement and WinRHIZO software for plant root parameter assessment. Plant Disease 95: 1308-1310.
 - 20- Pavlovic J., Samardzic J., Maksimović V., Timotijevic G., Stevic N., Laursen K.H., Hansen T.H., Husted S., Schjoerring J.K., and Liang Y. 2013. Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. New Phytologist 198: 1096-1107.
 - 21- Pirzad A., and Shokrani F. 2012. Effects of iron application on growth characters and flower yield of *Calendula officinalis* L. under water stress. World Applied Sciences Journal 18: 1203-1208.
 - 22- Romera F.J., García M.J., Alcántara E., and Pérez-Vicente R. 2011. Latest findings about the interplay of auxin, ethylene and nitric oxide in the regulation of Fe deficiency responses by Strategy I plants. Plant Signaling & Behavior 6: 167-170.
 - 23- Roosta H.R., Jalali M., and Ali Vakili Shahrbabaki S.M. 2015. Effect of nano Fe-chelate, Fe-Eddha and FeSO₄ on vegetative growth, physiological parameters and some nutrient elements concentrations of four varieties of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in NFT system. Journal of Plant Nutrition 38: 2176-2184.
 - 24- Santos C.S., Roriz M., Carvalho S.M., and Vasconcelos M.W. 2015. Iron partitioning at an early growth stage impacts iron deficiency response in soybean plants (*Glycine max* L.). Frontiers in Plant Science 6:1-12.
 - 25- Satoh S. 2011. Ethylene production and petal wilting during senescence of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) flowers and prolonging their vase life by genetic transformation. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 192: 127-135.
 - 26- Sepahvand K., Rezaei Nejad A., and Hosseini S. 2017. Effect of ascorbic acid on some morphological and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* under iron deficiency. Iranian Journal of Horticultural Science 48: 545-554. (In Persian with English abstract)
 - 27- Shaiful I.M., Hasanuzzaman M., Rokonuzzaman M., and Nahar K. 2009. Effect of split application of nitrogen fertilizer on morphophysiological parameters of rice genotypes. International Journal of Plant Production 3: 51-62.
 - 28- Ulger S., Sonmez S., Karkacier M., Ertoý N., Akdesir O., and Aksu M. 2004. Determination of endogenous hormones, sugars and mineral nutrition levels during the induction, initiation and differentiation stage and their effects on flower formation in olive. Plant Growth Regulation 42: 89-95.
 - 29- Viganì G., Zocchi G., Bashir K., Philippar K., and Briat J-F. 2013. Signals from chloroplasts and mitochondria for iron homeostasis regulation. Trends in Plant Science 18: 305-311.
 - 30- Vijay I., Nageswara Rao M.B., Sudhavani V., Viji C.P. 2018. Effect of iron on vegetative growth, flowering, corm and cormel production in gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* L.) cv. white prosperity", International Journal of Pure & Applied Bioscience 6: 564-569.
 - 31- Yang G., Li J., Liu W., Yu Z., Shi Y., Lv B., Wang B., and Han D. 2015. Molecular cloning and characterization of MxNAS2, a gene encoding nicotianamine synthase in *Malus xiaojinensis*, with functions in tolerance to iron stress and misshapen flower in transgenic tobacco. Scientia Horticulturae 183: 77-86.



Effect of Different Iron Concentrations and Staircase Iron Regime on Some Morphological, Biochemical and Flowering Characteristics of *Calendula officinalis*

Z. Izadi¹- A. Rezaei Nejad^{2*}

Received: 28-08-2019

Accepted: 23-06-2020

Introduction: While Iron (Fe) is the fourth most abundant element in the earth's crust, it is not easily available for plant roots. Therefore, Fe deficiency is one of the major limiting factors for plant growth and development in calcareous soils worldwide. Fe deficiency are also predominant in many areas of Iran. It is an essential micronutrient for plants that play vital roles in many metabolic processes. Fe is a component of a number of molecules such as Fe-sulfur (Fe-S) and heme Fe proteins, which are required for photosynthesis, respiration and N₂ fixation. However, the possibility of using split-type fertilization at different growth stages during development has been explored in other plant species for macronutrients N, P, and K. The aim of this work was to test the hypothesis that it may be feasible to decrease Fe-chelate inputs, by studying the effect of gradually increasing of Fe concentration during *Calendula officinalis* growing period.

Materials and Methods: In order to study the effect of gradual increase of Fe concentration during *Calendula officinalis* growing period, an experiment was carried out as a completely randomized design with four replications (pots) at research greenhouse of Faculty of Agriculture, Lorestan University, in 2017. Treatments contained three levels of Fe (Fe-chelate Fe (III)- Ethylenediamine-N, N' -bis ((2-hydroxyphenyl) acetic acid): 4, 20 μ M and staircase method. Staircase treatment included increase of Fe concentration, so that at first week plants received 4 μ M Fe then 2 μ M was added to Fe concentration weekly, to reach 26 μ M. Some morphological, physiological parameters, flower characteristics and gas exchange had measured. Data of all measured parameters were subjected to analysis of variance using the SAS software (9.1.3, SAS Institute Inc.), and means were compared using a Duncan test at $P \leq 0.05$.

Results and Discussion: Results showed that the application of 4 μ M Fe led to higher root volume, and peroxidase activity. Romera et al. (2011) reported that under Fe deficiency, strategy of plants developed morphological changes in their roots and up-regulated the expression of Fe acquisition genes. Under Fe deficiency some phytohormones such as ethylene and auxin will increased. Both hormones play pivotal role in the development of sub-apical root hair and transfer cells. Sepahvand et al (2017) investigated the effect of ascorbic acid on *pelagonium graveolens* characteristics under Fe deficiency and found that peroxidase activity increased under Fe deficiency. Application of ascorbic acid led to decrease peroxidase activity. Maximum biomass was obtained in plants under 35 μ M Fe and staircase treatment. Maximum chl a and b, chl a+b, carotenoids, root dry weight, flower diameter, flower longevity, number of flowers, and first flower fresh weight was observed in the plants under staircase treatment. Fe plays important role in biosynthetic pathway of chlorophyll and carotenoids. In addition, plants under staircase treatment showed the maximum photosynthesis and transpiration rate. Kong et al. (2014), reported that Fe deficiency led to decrease of δ - aminolevulinic acid and protochlorophyllide as precursors of chlorophyll. Ethylene and ABA are involved in Fe-deficiency signalling in plants, and these compounds may hasten senescence (Satoh, 2011). The short flower lifetime found in the present experiment in the low Fe treatment may be due to the boost in ethylene and ABA synthesis in response to Fe deficiency. On the other hand, plants under staircase regime had higher photosynthetic pigments that led to maximum photosynthesis. Increasing flower quality, quantity and longevity related to higher photosynthesis activity. Iron is a component of a number of proteins and enzymes, such as iron-sulfur (Fe-S) proteins and non-heme iron proteins, which are required during photosynthesis (Chakraborty et al., 2012). Li et al. (2016) investigated the influence and interaction of Cadmium (Cd) and Fe on photosynthesis and reported that Cd inhibits photosynthesis activity, but Fe alleviates the Cd-induced changes in photosynthesis activity. In addition, higher MDA contents were observed in plants under 35 μ M Fe and staircase treatment. Li et al. (2012) reported that the high levels of Fe led to maximum MDA contents.

Conclusion: Growing the plants with staircase treatment increased flower yield, quality and longevity. These

1 and 2- Ph.D. Student and Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, respectively.

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

parameters are the most important factors in growing of ornamentals plants. Whereas Fe fertilizers are so expensive, restricting the use of expensive products such as Fe (III)-chelates at some growth stages can contribute to decrease the cultivation costs and minimize environmental pollution associated to an excess of fertilizer inputs. Therefore, gradually increasing Fe concentrations during production of *Calendula officinalis* under soilless culture would be recommended.

Keywords: Ornamental plants, Photosynthesis parameters, Photosynthesis pigments

Contents

<i>In Vitro</i> Mature Embryo Germination of Pecan (<i>Carya illinoensis</i>)	206
M. Ghazaeian - Gh.H. Davarynejad- K. Ghasemi Bezdi- H. Nemat	
Effect of Different Grafting Methods on Vegetative Growth and Yield of Tomato Fruit	219
H. Eini Garsadafi - B. Zahedi -F. Moradi poor	
Effects of Gamma-aminobutyric Acid Treatment on Postharvest Chilling Injury on Tomato Fruit	230
M. Moradi- F. Razavi-V. Rabiei- M.S. Aghdam- L. Salehi	
Evaluation of Calcium Bicarbonate Effects on Physiological Reaction and Growth Indices of Almond Cultivars Grafted on GN Rootstock	246
A. Imani - K. Parvizi - H. Beyrami Jam - E. Hadavi	
Evaluation of Morphological and Phytochemical Characteristics Changes in Different Populations of <i>Stachys inflata</i> Benth. in Hamedan Province	260
M. Salehi – R. Kalvandi	
Selection of Optimal Cultivation Media for Gerbera (<i>Gerbera jamesonii</i>) Growth in the Hydroponic Culture System	271
M. Kharrazi - A. Sharifi- S. Nejatizadeh- A. Khadem- M. Moradian	
Influence of Different <i>Agrobacterium rhizogenes</i> Strains on Hairy Roots Induction and Secondary Metabolites Production in <i>Ocimum basilicum</i> L.	284
M. Zare Hasan Abadi - A. Ganjeali- M. Lahouti- N. Moshtaghi	
Effect of Different Levels of Nitrogen on Yield, Nitrate Content, Essential Oil Yield and some Physiological Traits in Four Cultivars of Sweet Basil (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	301
F. Moayedi - S. Kordi- A.A. Mehrabi- S. Dastborhan	
Evaluation of some Vegetative and Physiological Traits of Domestic Pistachio Seedlings in Controlled Crosses with Integerrima Pollen Grains in Order to Access Drought Tolerant Genotypes	319
H. Farhadi - M. Sharifani- M. Alizadeh- H. Hokmabadi- S. Aliniaiefard	
The Positive Effect of Selenium on Nitrate Accumulation in Spinach (<i>Spinacia oleracea</i> L.) and Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.)	334
M. Jalali - N. Salehi Chegeni	
Evaluation the Effect of Water Hyacinth and Humic Acid Compost on some Morphophysiological and Biochemical Properties of Gerbera (<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus. cv. Artist)	347
F. Ghorbanalizade - M. Karimi- K. Ghasemi- M. Hatami	
Effect of Different Iron Concentrations and StaircaseIron Regime on Some Morphological, Biochemical and Flowering Characteristics of <i>Calendula officinalis</i>	360
Z. Izadi - A. Rezaei Nejad	

HORTICULTURAL SCIENCES

(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)

Vol. 34

No. 2

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,SH.	Research Scientist	Bioproducts and Bioprocesses, Agriculture and Agri-Food Canada.
Davarynejad, GH.	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.

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>