# Journal of Horticultural Science

( Agricultural Science and Technology )

ISSN:2008-4730

Ferdowsi University of Mashhad

Vol. 35 No. 2

2021


## Contents




نشریه علمی

# علــوم باغبــانی

(علوم و صنایع کشاورزی)

دانشگاه فردوسی مشهد

شماره ۲ جلد ۳۵

سال ۱۴۰۰

شاپا: ۴۷۳۰-۲۰۰۸

شماره پیاپی ۵۰


## عنوان مقالات




نشریه علمی علوم باغبانی جلد ۳۵ شماره ۲ سال ۱۴۰۰ 2021 No. 2 Vol. 35 Journal of Horticultural Science

# نشریه علوم باغبانی

**(علوم و صنایع کشاورزی)**

با شماره پروانه 68/4/11 - 21/2015 و درجه علمی – پژوهشی شماره 73/10/19 - 26524 از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

**جلد 35 شماره2 تابستان 1400**

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



**ناشر:** انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

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

**پست الکترونیکی:** Jhorts4@um.ac.ir

**مقالات این شماره در سایت https://jhs.um.ac.ir به صورت مقاله کامل نمایه شده است .**

**این نشریه به صورت فصلنامه (4 شماره در سال) چاپ و منتشر می شود.**

# مندرجات

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 169-182
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۸۲-۱۶۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# مطالعه وجود SNPها در ژن‌های *SUN* و *OVATE* دخیل در شکل میوه گوجه‌فرنگی

ساناز خضرلو[1]- بابک عبدالهی مندولکانی[2*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۸

## چکیده

شکل میوه از صفات بسیار مهم و موثر در کیفیت گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) بوده و ژن‌های *SUN* و*OVATE* از ژن‌های کلیدی کنترل کننده طول میوه می‌باشند. به منظور شناسایی SNPها (Single nucleotide polymorphism) در این ژن‌ها، قطعاتی از نواحی کد کننده آنها در ۹۶ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی تکثیر و با آنزیم‌های محدود کننده *TruI* و *PstI* هضم شد. هضم قطعات تکثیری این دو ژن در ژنوتیپ‌ها چندشکلی تولید نکرد بنابراین چهار ژنوتیپ از جمعیت‌های مختلف انتخاب و قطعه تکثیری ژن‌ها در این ژنوتیپ‌ها توالی‌یابی شد. همردیفی توالی‌ها برای شناسایی SNPها با استفاده از نرم افزار Clustal Omega انجام گرفت. توالی‌یابی قطعه تکثیری ژن *SUN* منجر به شناسایی یک ناحیه اینترونی به طول ۳۶۹ جفت باز شد. بر اساس نتایج، در ژن *SUN* ده SNP شناسایی شد. از کل SNPهای شناسایی شده در این ژن، ۸۰ درصد آنها از نوع همجنس و ۲۰ درصد آنها از نوع غیرهمجنس بود. در ژن *OVATE* پنج SNP شناسایی شد که ۸۰ درصد آنها از نوع همجنس و ۲۰ درصد آنها از نوع غیرهمجنس بود. میانگین تعداد SNPها به ازای هر ۱۰۰ جفت باز در نواحی اگزونی و اینترونی ژن *SUN* به ترتیب ۰/۹ و ۱/۶۲ بود. در ژن *OVATE* به ازای هر ۱۰۰ جفت باز نیم SNP در ناحیه اگزونی شناسایی شد. با توجه به نقش مهم کیفیت میوه بخصوص شکل آن در بازارپسندی گوجه‌فرنگی، SNPهای شناسایی شده در این تحقیق می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی گوجه فرنگی برای مطالعه تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی و شناسایی نشانگرهای عملکردی مرتبط با شکل میوه مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع تک نوکلئوتیدی، جهش‌های همجنس، شکل میوه، گوجه‌فرنگی

## مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) یکی از گیاهان مهم خانواده Solonaseae می‌باشد. این گیاه به علت ویژگی‌های مهمی مثل توانایی تولید بذر، چرخه زندگی کوتاه، توانایی رشد تحت شرایط کشت مختلف، ژنوم کوچک، کنترل آسان گرده‌افشانی، خودگشن و هموزیگوت بودن، هیبریداسیون، (۱۶) و توانایی تولید مثل غیرجنسی بوسیله پیوند و امکان باززایی گیاهان از ریز نمونه‌های مختلف، یک نمونه معین برای معرفی ژن‌های مهم زراعی در گیاهان دو لپه‌ای و مناسب برای برنامه‌های تحقیقاتی می‌باشد (۲، ۱۳ و ۲۰). گوجه‌فرنگی یکی از مهمترین سبزی‌های زیر کشت و کار در جهان است که ارزش غذایی بالایی داشته و یک منبع مهم از نظر مواد کانی، کاروتنوئیدها و ویتامین‌ها به شمار می‌رود (۱۸ و ۱۹). لیکوپن گوجه فرنگی بدلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۲۱). به همین دلیل افزایش عملکرد، بهبود شکل، اندازه، کیفیت میوه مانند رنگ، بافت و سفتی میوه، میزان قند، اسیدیته، مواد‌جامد محلول، لیکوپن، بتاکاروتن و مواد اکسیدکننده ازجمله اهداف مهم اصلاحی در گوجه‌فرنگی به شمار می‌آید (۱۲).

کیفیت میوه گوجه‌فرنگی نقش مهمی در بازار پسندی و در نتیجه اقتصاد آن دارد. کیفیت میوه گوجه‌فرنگی با عواملی مانند شکل، رنگ، گوشتی بودن، استحکام و طعم ارزیابی می‌شود. افزون بر این عامل‌ها، ارزش غذایی میوه گوجه‌فرنگی، استفاده نکردن حشره‌کش‌ها و قارچ کش‌ها و تولید ارگانیک نیز در کیفیت آن نقش دارد (۶). امروزه گوجه‌فرنگی بیشترین تنوع را از نظر شکل میوه، اندازه و رنگ دارد. با وجود تفاوت‌های چشم‌گیر صفات مختلف این گیاه، ارقام مختلف گوجه‌فرنگی فقط در تعداد انگشت شماری از ژن‌ها باهم تفاوت دارند (۵، ۱۷). شکل میوه گوجه‌فرنگی یکی از صفات مربوط به کیفیت است که توسط چندین ژن کنترل می‌شود. بر اساس مطالعات ژنتیک

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورری و استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه ارومیه
(*- نویسنده مسئول: Email: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61531.0

مولکولی ژن‌های مختلفی در شکل میوه گوجه‌فرنگی دخالت دارد از جمله این ژن‌ها می‌توان به *SUN* و *OVATE* اشاره کرد. این دو ژن متعلق به خانواده ژنی IQD [1] می‌باشد (۸ و ۱۴). همسانه‌سازی و بررسی عملکرد ژن *SUN* نشان داد که این ژن طول میوه را کنترل می‌کند (۱۰، ۲۱ و ۲۲). بررسی‌ها نشان داد که بیان بالای این ژن منجر به افزایش سلول‌ها در امتداد طولی و کاهش سلول‌ها در جهت عرض میوه و در نتیجه باعث افزایش طول میوه می‌گردد (۲۱). ژن *OVATE* نیز کنترل طول میوه را بر عهده دارد. تحقیقات نشان داده جهش یک کدون ژن *OVATE* باعث تغییر شکل میوه گوجه فرنگی از حالت کروی به گلابی شکل می‌شود. بیان بیشتر ژن *OVATE* باعث کاهش اندازه گل و برگ می‌شود از این رو این ژن به عنوان یک تنظیم کننده منفی رشد گیاه شناخته می‌شود (۱۴).

نشانگرهای مولکولی وابسته به DNA از جمله ابزارهای قدرتمند تشخیصی هستند که نه تنها برای شناسایی چندشکلی در سطح ژنوم بلکه در رابطه با مکان‌های ژنتیکی خاص نیز مورد استفاده قرار می گیرند (۳). از جمله نشانگرهای DNA کارا که امروزه در مطالعات ژنتیکی بیشتر مورد توجه قرار گرفتند SNPها می‌باشند. SNPها چندشکلی مبتنی بر تفاوت در یک نوکلئوتید می‌باشند که منبع ژنتیکی عمده از تغییرات فنوتیپی درون یک‌گونه بشمار می‌روند. نشانگرهای مبتنی بر SNPها هم بارز و دو آللی می‌باشند. کارایی بالای SNPها، به دلیل حضور آنها در تمام نواحی ژنوم، اینترون‌ها و همچنین اگزون ها می‌باشد. هر فرد متعلق به یک گونه، دارای هزاران SNP می‌باشد که ترکیب این تنوع‌ها باعث می‌شود فنوتیپ هر فرد بصورت خاص و منحصر به فرد تظاهر یابد. به علت پایداری بیشتر، موتاسیون کمتر و حضور SNPها در بیشتر نقاط ژنوم، استفاده از آنها به عنوان نشانگر ژنتیکی در مطالعات گیاهی گسترش زیادی دارد (۷). در بررسی توالی-های EST در واریته‌های مختلف گوجه‌فرنگی، در هر ۷۰۰۰ جفت باز یک SNP گزارش شد. همچنین در این مطالعه سطح پایینی از چندشکلی در گوجه فرنگی گزارش شد (۲۳). در بررسی SNPها در گیاه بادام زمینی گزارش شد بیشترین SNPها مربوط به تبدیل بازهای C/T، G/A با فراوانی ۶۸/۲ درصد می‌باشد. در حالیکه تبدیل بازهای A/C و T/G با فراوانی ۲۲/۷ درصد، G/C با فراوانی ۶/۸ درصد و A/T با ۲/۳ درصد کمترین فراوانی را داشتند (۹). با توجه به نقش مهم ژن‌های *SUN* و *OVATE* در کنترل شکل میوه گوجه فرنگی و عدم شناسایی تنوع‌های تک نوکلئوتیدی در این ژن‌ها، هدف از این مطالعه شناسایی SNPها در نواحی اگزونی این ژن‌ها در جمعیت‌های مختلف گوجه‌فرنگی به روش همردیفی چندگانه بود.

## مواد و روش‌ها

بذور ۹۶ ژنوتیپ گوجه فرنگی از ۱۲ جمعیت مختلف (جدول ۱) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه کشت شد. بعد از رسیدن گیاه به مرحله ۶-۴ برگی، نمونه‌های برگی از گیاهان برداشت و در نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

**استخراج DNA ژنومی و طراحی آغازگر:** DNA ژنومی از برگ‌های جوان و سبز گیاه گوجه‌فرنگی به روش CTAB استخراج شد (۴). به منظور بررسی کیفیت و کمیت DNA از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و اسپکتوفتومتری استفاده شد. توالی نواحی کد کننده ژن‌های *SUN* و *OVATE* از پایگاه اطلاعاتی NCBI ذخیره و نواحی اینترونی و اگزونی آنها با استفاده از نرم‌افزار Softberry تعیین شد. آغازگرهای اختصاصی هر ژن (جدول ۲) با استفاده از نرم‌افزارهای FastPCR و Gen Runner طراحی و از نظر وجود ساختارهای ثانویه مثل آغازگر-دایمر و ساختارهای سنجاق سری بررسی شدند.

**واکنش‌های PCR :** قطعاتی با اندازه‌های ۴۴۳ (ژن *SUN*) و ۱۰۳۹ (ژن *OVATE*) جفت باز از نواحی کد کننده این دو ژن با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر شد. واکنش‌های PCR با استفاده از مستر میکس لیوفیلیزه (Bioneer، کره جنوبی) در دستگاه ترموسایکلر (Analytik jena، آلمان) انجام شد. برنامه دمایی مورد استفاده شامل واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ ثانیه در دمای اتصال ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای ژن *SUN* و ۵۵ درجه‌سانتی‌گراد برای ژن *OVATE* و دو دقیقه برای بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از تکثیر قطعات ژنی، محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵درصد الکتروفورز و باندهای مربوطه مشاهده شد.

**هضم قطعات تکثیر شده ژن‌های مورد مطالعه:** به منظور هضم قطعات تکثیر شده دو ژن با آنزیم‌های *Pst1* و *TruI* (Fermentas، آلمان)، ابتدا الگوی برشی و طول قطعات حاصل از برش ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار FastPCR پیش‌بینی شد. سپس قطعات تکثیر شده دو ژن در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه (۹۶ ژنوتیپ) با استفاده از آنزیم‌های فوق‌الذکر بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده هضم شد. به منظور آشکارسازی قطعات حاصل از برش از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ ۸۰ به مدت یک و نیم ساعت استفاده شد.

1- IQ-domain

جدول ۱- مشخصات توده‌های گوجه‌فرنگی مورد استفاده در این مطالعه

**Table 1– Description of the tomato landraces used in the study**

| منطقه<br>**Origin** | اندازه میوه<br>**Fruit size** | کد<br>**Code** | منطقه<br>**Origin** | اندازه میوه<br>**Fruit size** | کد<br>**Code** |
|---|---|---|---|---|---|
| Iran-Miandoab | کوچک<br>Small | IRMI7 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU1 |
| Iran-Bokan | متوسط<br>Intermediate | IRB | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU2 |
| Iran-Mahabad | متوسط<br>Intermediate | IRMA1 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU3 |
| Iran-Mahabad | بزرگ<br>Large | IRMA2 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU4 |
| Iran-Mahabad | متوسط<br>Intermediate | IRMA4 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU5 |
| Iran-Mahabad | کوچک<br>Small | IRMA5 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU6 |
| Iran-Mahabad | کوچک<br>Small | IRMA6 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU7 |
| Iran-Mahabad | کوچک<br>Small | IRMA7 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU8 |
| Iran-Mahabad | بزرگ<br>Large | IRMA8 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU10 |
| Iran-Mahabad | بزرگ<br>Large | IRMA9 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU11 |
| Iran-Mahabad | متوسط<br>Intermediate | IRMA10 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU12 |
| Iran-Qaraziaediin | بزرگ<br>Large | IRQ1 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU13 |
| Iran-Qaraziaediin | متوسط<br>Intermediate | IRQ2 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU14 |
| Iran-Qaraziaediin | بزرگ<br>Large | IRQ3 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU15 |
| Iran-Qaraziaediin | بزرگ<br>Large | IRQ4 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU16 |
| Iran-Qaraziaediin | متوسط<br>Intermediate | IRQ5 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU18 |
| Iran-Qaraziaediin | بزرگ<br>Large | IRQ6 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU19 |
| Iran-Qaraziaediin | متوسط<br>Intermediate | IRQ7 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU20 |
| Iran-Qaraziaediin | متوسط<br>Intermediate | IRQ8 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU21 |
| Iran-Khoy | متوسط<br>Intermediate | IRKH1 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU22 |
| Iran-Khoy | کوچک<br>Small | IRKH2 | Iran-Urmia | خیلی کوچک<br>Very small | IRU23 |
| Iran-Salmas | کوچک<br>Small | IRSA1 | Iran-Urmia | بزرگ<br>Large | IRU24 |
| Iran-Salmas | بزرگ<br>Large | IRSA2 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU25 |

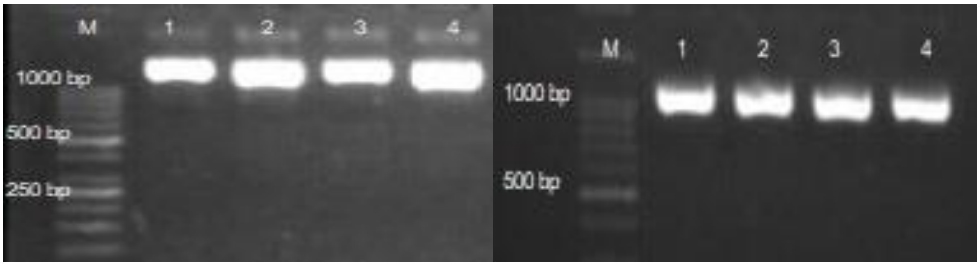
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Iran-Sardasht | خیلی کوچک<br>Very small | IRSR1 | Iran-Urmia | متوسط<br>Intermediate | IRU26 |
| Iran-Sardasht | خیلی کوچک<br>Very small | IRSR2 | Iran-Oshnavieh | متوسط<br>Intermediate | IRO1 |
| Iran-Sardasht | کوچک<br>Small | IRSR3 | Iran-Oshnavieh | کوچک<br>Small | IRO2 |
| Iran-Sardasht | خیلی کوچک<br>Very small | IRSR4 | Iran-Oshnavieh | متوسط<br>Intermediate | IRO3 |
| Iran-Sardasht | کوچک<br>Small | IRSR5 | Iran-Oshnavieh | متوسط<br>Intermediate | IRO4 |
| Iran-Sardasht | کوچک<br>Small | IRSR6 | Iran-Oshnavieh | بزرگ<br>Large | IRO5 |
| Iran-Sardasht | متوسط<br>Intermediate | IRSR7 | Iran-Oshnavieh | خیلی کوچک<br>Very small | IRO6 |
| Iran-Sardasht | کوچک<br>Small | IRSR8 | Iran-Piranshahr | بزرگ<br>Large | IRP1 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG1 | Iran-Piranshahr | بزرگ<br>Large | IRP2 |
| Turkey-Iğdır | بزرگ<br>Large | TUIG2 | Iran-Piranshahr | متوسط<br>Intermediate | IRP3 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG3 | Iran-Piranshahr | متوسط<br>Intermediate | IRP4 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG4 | Iran-Piranshahr | متوسط<br>Intermediate | IRP5 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG5 | Iran-Piranshahr | متوسط<br>Intermediate | IRP6 |
| Turkey-Iğdır | بزرگ<br>Large | TUIG6 | Iran-Piranshahr | متوسط<br>Intermediate | IRP7 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG7 | Iran-Piranshahr | کوچک<br>Small | IRP8 |
| Turkey-Iğdır | کوچک<br>Small | TUIG8 | Iran-Piranshahr | بزرگ<br>Large | IRP9 |
| Turkey-Iğdır | کوچک<br>Small | TUIG9 | Iran-Piranshahr | کوچک<br>Small | IRP10 |
| Turkey-Iğdır | متوسط<br>Intermediate | TUIG10 | Iran-Naghadeh | کوچک<br>Small | IRN1 |
| Turkey-Iğdır | کوچک<br>Small | TUIG11 | Iran-Naghadeh | کوچک<br>Small | IRN2 |
| Turkey-Iğdır | بزرگ<br>Large | TUIG12 | Iran-Miandoab | متوسط<br>Intermediate | IRMI1 |
| Turkey-Iğdır | خیلی کوچک<br>Very small | TUIG13 | Iran-Miandoab | بزرگ<br>Large | IRMI2 |
| Turkey-Iğdır | کوچک<br>Small | TUIG14 | Iran-Miandoab | متوسط<br>Intermediate | IRMI3 |
| Iran | متوسط<br>Intermediate | CH Peto Early | Iran-Miandoab | متوسط<br>Intermediate | IRMI4 |
| Iran | متوسط<br>Intermediate | Rio Grande | Iran-Miandoab | متوسط<br>Intermediate | IRMI5 |
| Turkey | متوسط<br>Intermediate | H-2274 | Iran-Miandoab | کوچک<br>Small | IRMI6 |

**جدول ۲- مشخصات آغازگرهای طراحی شده برای تکثیر دو ژن SUN و OVATE در گوجه‌فرنگی**

**Table 2- Characteristics of the primers designed for amplification of *SUN* and *OVATE* genes in tomato**

| نام ژن<br>Gene name | شماره دسترسی<br>Accession number | توالی آغازگر (5´→3´)<br>Primer sequence (5´→3´) | طول قطعه (جفت باز)<br>Fragment length (bp) |
|---|---|---|---|
| ***SUN*** | EU491503.1 | TGAGGCGAAAGGAACACC<br>TCCAAGTGCTAAGGCTCT | 443 |
| ***OVATE*** | 001247292.2 | AGCTTCGGTTCTCCAGAGT<br>CAGTAGGTGGGTGTGGGAT | 1039 |

**توالی‌یابی:** با توجه به این که هضم آنزیمی توالی‌های تکثیری دو ژن در افراد مطالعه شده چندشکلی تولید نکرد بنابراین برای شناسایی SNPها در نواحی کدکننده ژن‌های *SUN* و *OVATE* از روش توالی‌یابی استفاده شد. چهار فرد از جمعیت‌های مشابه (جمعیت هایی با فاصله جغرافیایی نزدیک به هم)، انتخاب و بعد از انجام واکنش PCR، حدود ۴۰ میکرولیتر از محصول PCR هر نمونه روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با ولتاژ ۸۰ تفکیک گردید و سپس با استفاده از کیت خالص‌سازی (Qiagen، آمریکا) از ژل تخلیص و جهت توالی-یابی به شرکت تکاپو زیست (تهران، ایران) ارسال گردید. با توجه به اینکه طول قطعات تکثیری برای هر دو ژن بیشتر از ۱۰۰۰ جفت باز بود برای قرائت کامل، توالی‌یابی از هر دو انتهای قطعات PCR و با استفاده از هر دو آغازگر پیشرو و معکوس که در واکنش PCR استفاده شده بود، انجام گرفت. برای اطمینان از صحت قطعات توالی-یابی شده، ابتدا توالی‌ها در برابر ژنوم گوجه فرنگی بلاست شد و نواحی مشترک توالی‌های پیشرو و معکوس هر قطعه شناسایی و توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار FastPCR بازیابی شد.




**شکل ۱- قطعات تکثیر شده ژن‌های *SUN* (سمت چپ) و *OVATE* (سمت راست) به ترتیب با اندازه‌های ۱۰۰۰ و ۱۰۳۹ جفت باز در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی (چاهک‌ها به ترتیب M: نشانگر 1Kb (Fermentas، آلمان)، ۱: ترکیه، ۲: ارومیه، ۳: بوکان ( برای ژن *SUN*) و قره‌ضیائدین (برای ژن *OVATE*)، ٤: سردشت)**

**Figure 1- Amplified fragments of the *SUN* (left) and *OVATE* (right) gene fragments with the length of 1000 and 1039 bp, respectively in different tomato genotypes (Lanes, M: 1Kb DNA ladder (Fermentas, Germany), 1:Turkey, 2: Urmia, 3:Bukan (for the *SUN* gene) and Qaraziaddin (for the *OVATE* gene), 4: Sardasht)**


**شکل ۲- هضم آنزیمی قطعات تکثیر شده ژن‌های *SUN* (سمت چپ) و *OVATE* (سمت راست) با آنزیم برشی *TruI* در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه فرنگی (M: نشانگر اندازه 1Kb (Ferments، آلمان)، چاهک‌های ۱ تا ٤ نمونه‌های هضم شده، ۱: ترکیه، ۲: ارومیه، ۳: بوکان ( برای ژن *SUN*) و قره‌ضیاءالدین (برای ژن *OVATE*)، ٤: سردشت)**

**Figure 2- Digestion of the amplified fragments of the *SUN* (left) and *OVATE* (right) genes by using *TruI* enzyme in different tomato genotypes (M: 1Kb DNA ladder (Fermentas, Germany), Lanes 1 to 4 digested samples, 1: Turkey, 2: Urmia, 3: Bukan (for *SUN* gene) and Qaraziaddin (for *OVATE* gene), 4: Sardasht)**

CGGGGGCTTTTTGGCGTTTTGCTATAGCACGGCAGCAGCTGCTGAGGCTGCTGTAGCTGCTGCTAATGC
TGCTGCTGATGTTATCGGCTAACAGATGCTCCAAGTGAATTCAAAAGGAAACGCACACAAGCGGCTATTA
GAATCCAAAGTGCTTATCGCGCTCACCTGGTAAAACATCCTCTCTGGGAGCTCTGGTACTTTCACTCATAA
AATTTCACTGTGACCTTGTGGCAGGATCGTTATTAAGGCTCCTTCCTTCCTCCGCTGGAGCCTTTGAACGT
CTACTTTAACGAGGTGGGTACCTCAAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCT
CCCGGCCAGCGGAAACAATTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCGTTTAACTTGAGCCTGGTACCATTGACGCCT
TCCCTTCGGTTCTTTCTGTCAGCTCTTCCGGTTTTAGAACTTCGA**TTTTCAGGCCACAGAAGACCCAGCA**
**CAAACGGCATCCATGGTACCAGACTCAAGATCAAAGAGGAGGGCACGAGGGACATAATTGTTTCCG**
**CTGGCCGGGAGAAGCGGTCAGGAGTTCCAAAGCGTTTTCATAGATGCTGAAATTTTGAGGTACCCA**
**CCTCGCTAAAGTAAACGTTCATACGCCCCAGCTGGAAATCGGAGACGCCATAGTAACCATCCTGCC**
**TTCAGATCCACTCCAACTTCTAATGCCATATGTCCTCATCCTTCGAGGTGTATACAGGCTGTACCTA**
**CAACCCCGAGCCCTCTAAGGCCGTCTTCCCCAATATGTAATCAAGTTTCCAAACATTAGTTCAACTA**
**TACTAAATCTAT**AAAAAAGACCTAAAACACATCTTATTAGACTTTTATGGTTTGGAACTGTAATATGGTT
TTGTTCCAAGCAT

**شکل ۳- ناحیه اینترونی (قسمت‌های پر رنگ) ۳٦۹ جفت بازی شناسایی شده در قطعه تکثیری ژن *SUN***

**Figure 3- Detected intron region (Bold letters) in the amplified fragment of the *SUN* gene with a length of 369 bp**

سپس هم‌ردیفی چندگانه بین توالی‌های مربوط به هر ژن توسط نرم‌افزار Clastal Omega جهت شناسایی SNPها انجام گرفت.

## نتایج و بحث

**تکثیر و هضم قطعات ژنی:** هضم قطعات تکثیری بخشی از نواحی کد کننده دو ژن *SUN* و *OVATE* به ترتیب به طول ۴۴۳ (در روی ژل قطعه‌ای در حدود ۱۰۰۰ جفت باز مشاهده شد) و ۱۰۳۹ جفت باز (شکل ۱) با استفاده از آنزیم‌های *TruI* و *Pst1* چندشکلی بین ۹۶ ژنوتیپ به لحاظ الگوی برشی نشان نداد (شکل ۲).

**شناسایی ناحیه اینترونی *SUN*:** بعد از انجام واکنش PCR برای ۹۶ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی و الکتروفورز قطعات تکثیری، باندی به طول ۱۰۰۰ جفت باز مشاهده گردید، در حالی که برای این ژن آغازگرهایی برای تکثیر قطعه‌ای به طول ۴۴۳ جفت باز طراحی شده بود. توالی‌یابی و بررسی توالی قطعات تکثیری این ژن توسط نرم‌افزار Softberry منجر به شناسایی یک ناحیه اینترونی ۳۶۹ جفت بازی در این ژن شد (شکل ۳).

**همردیفی توالی‌ها و شناسایی SNPها در ژن *SUN*:** بر اساس نتایج همردیفی بین توالی نمونه‌های انتخابی جمعیت‌های ترکیه، ارومیه، بوکان و پیرانشهر در نواحی اگزونی (شکل ۴) و اینترونی (شکل ۵) ژن *SUN*، جهش مربوط به بازهای G/A، T/C و T/G در این ژن مشاهده شد. بیشترین جهش در نواحی اگزونی مربوط به تبدیل بازهای G/T بود در حالی‌که در نواحی اینترونی بیشترین جهش مربوط به تبدیل بازهای T/C بود (جدول ۳).

**همردیفی توالی‌ها و شناسایی SNPها در ژن *OVATE*:** همردیفی بین توالی نمونه‌های انتخاب شده از جمعیت‌های ارومیه، ترکیه، قره‌ضیاءالدین و پیرانشهر نشان داد که جهش‌های مربوط به تبدیل بازهای G/A، T/C و T/C در ژن *OVATE* مشاهده می‌شود. بیشترین جهش مربوط به تبدیل باز G/A و T/C بود (شکل ۶، جدول ۴).

**جدول ۳- فراوانی SNPهای شناسایی شده در ژن *SUN* در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی**

**Table 3- Frequency of the identified SNPs in *SUN* gene in tomato genotypes**

| نوع SNP<br>SNP type | تعداد SNP در اگزون<br>Number of SNPs in exon | تعداد SNP در اینترون<br>Number of SNPs in intron | تعداد کل SNP<br>Total SNPs | درصد SNP<br>SNP percentage |
|---|---|---|---|---|
| G/A | 1 | 2 | 3 | 30 |
| T/C | 1 | 4 | 5 | 50 |
| T/G | 2 | - | 2 | 20 |

در ژن *SUN* از ده SNP شناسایی شده، چهار SNP در ناحیه اگزونی و شش SNP در ناحیه اینترونی مشاهده شد. بطوریکه از کل SNPهای شناسایی شده در ژن *SUN*، ۸۰ درصد آنها از نوع همجنس با فراوانی ۳۰ درصد A/G و ۵۰ درصد T/C و ۲۰ درصد جهش ناهمجنس از نوع T/G بود. بیشترین جهش‌ها هم در نواحی اگزونی هم در نواحی اینترونی از نوع همجنس (C/T و A/G) بود. در ژن *OVATE* پنج SNP شناسایی شد. بطوریکه ۸۰ درصد جهش‌ها از نوع همجنس با فراوانی ۴۰ درصد G/A، ۴۰ درصد C/T و ۲۰ درصد

جهش از نوع ناهمجنس فقط از نوع G/T می‌باشد. درکل در توالی ژن *SUN* به ازای هر ۱۰۰ جفت باز ۱/۱ SNP (به طور متوسط ۰/۹ SNP در ناحیه اگزون و ۱/۶۲ SNP در ناحیه اینترون در هر ۱۰۰ جفت باز) مشاهده شد. دلیل فراوانی کم تعداد SNP در ناحیه اگزونی احتمالا به علت کمبود جهش در ناحیه کد کننده ژنی و محفوظ بودن آن در طول تکامل گیاه می‌باشد (۱). در کل در توالی تکثیر شده ژن *OVATE* به ازای هر ۱۰۰ جفت باز بطور میانگین ۰/۵ SNP در ناحیه اگزون شناسایی گردید.

```
SL.s_buk     AGCAGCTGCTGAGGCTGCTGTAGCTGCTGCTAATGCTGCTGCTGATGTTATCGGCTAACA
SL.s_sar     AGCAGCTGCTGAGGCTGCTGTAGCTGCTGCTAATGCTGCTGCTGATGTTATCGGCTAACA
SL.s_urm     AGCAGCTGCTGAGGCTGCTGTAGCTGCTGCTAATGCTGCTGCTGATGTTATCGGCTAACA
SL.s_tur     AGCAGCTGCTGAGGCTGCTGTAGCTGCTGCTAATGCTGCTGCTGATGTTATCGGCTAACA
             ************************************************************

SL.s_buk     GATGCTCCAAGTGAATCCAAAAGGAAACGCACACAAGCGGCTATTAGAATCCAAAGTGCT
SL.s_sar     GATGCTCCAAGTGAATTCAAAAGGAAACGCACACAAGCGGCTATTAGAATCCAAAGTGCT
SL.s_urm     GATGCTCCAAGTGAATTCAAAAGGAAACGCACACAAGCGGCTATTAGAATCCAAAGTGCT
SL.s_tur     GATGCTCCAAGTGAATTCAAAAGGAAACGCACACAAGCGGCTATTAGAATCCAAAGTGCT
             **************** *******************************************

SL.s_buk     TATCGCGCTCACCTGGTAAAACATCCTCTCTGGGAGCTCTGGTACTTTCACTCATAAAAT
SL.s_sar     TATCGCGCTCACCTGGTAAAACATCCTCTCTGGGAGCTCTGGTACTTTCACTCATAAAAT
SL.s_urm     TATCGCGCTCACCTGGTAAAACATCCTCTCTGGGAGCTCTGGTACTTTCACTCATAAAAT
SL.s_tur     TATCGCGCTCACCTGGTAAAACATCCTCTCTGGAAGCTCTGGTACTTTCACTCATAAAAT
             ********************************* **************************

SL.s_buk     TTCACTGTGACCTTGTGGCAGGATCGTTATTAAGGCTCCTTCCTTCCTCCGCTGGAGCCT
SL.s_sar     TTCACTGTGACCTTGTGGCAGGATCGTTATTAAGGCTCCTTCCTTCCTCCGCTGGAGCCT
SL.s_urm     TTCACTGTGACCTTGTGGCAGGATCGTTATTAAGGCTCCTTCCTTCCTCCGCTGGAGCCT
SL.s_tur     TTCACTGTGACCTTGTGGCAGGATCGTTATTAAGGCTCCTTCCTTCCTCCGCTGGAGCCT
             ************************************************************

SL.s_buk     TTGAACGTCTACTTTAACGAGGTGGGTACCTCAAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTT
SL.s_sar     TTGAACGTCTACTTTAACGAGGTGGGTACCTCAAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTT
SL.s_urm     TTGAACGTCTACTTTAACGAGGTGGGTACCTCAAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTT
SL.s_tur     TTGAACGTCTACTTTAACGAGGTGGGTACCTCAAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTT
             ************************************************************

SL.s_buk     GCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGAAACAATTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCG
SL.s_sar     GCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGAAACAATTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCG
SL.s_urm     GCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGAAACAATTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCG
SL.s_tur     GCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGAAACAATTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCG
             ************************************************************

SL.s_buk     TTTAACTTGAGCCTGGTACCATTGACGCCTTCCCTTCGGTTCTTTCTGTCAGCTCTTCCG
SL.s_sar     TTTAACTTGAGCCTGGTACCATTGACGCCTTCCCTTCGGTTCTTTCTGTCAGCTCTTCCG
SL.s_urm     TTTAACTTGAGCCTGGTACCATTGACGCCTTCCCTTCGGTTCTTTCTGTCAGCTCTTCCG
SL.s_tur     TTTAACTTGAGCCTGGTACCATTGACGCCTTCCCTTCGGTTCTTTCTGTCAGCTCTTCCG
             ************************************************************

SL.s_buk     TTTTTAGAACTTCGA
SL.s_sar     GTTTTATAACTTCGA
SL.s_urm     GTTTTAGAACTTCGA
SL.s_tur     GTTTTAGAACTTCGA
              ***** ********
```

**شکل ٤- همردیفی چندگانه توالی ناحیه اگزونی ژن *SUN* در چهار ژنوتیپ گوجه‌فرنگی (Urm: ارومیه، Buk: بوکان، Tur: ترکیه، Sar: سردشت)، (SNPها بصورت پررنگ و ایتالیک مشخص شدند)**

**Figure 4- Multiple alignment of the exonic region of the *SUN* gene in four tomato genotypes (Urm: Urmia, Buk: Bukan, Tur: Turkey, Sar: Sardasht), (SNPs are highlighted as bold and italic)**

SL.s_sar TTTTCAGGCCACAGAAGACCCAGCACAAACGGCATCCATGGTACCAGAC***T***CAAGATCAAA
SL.s_tur TTTTCAGGCCACAGAAGACCCAGCACAAACGGCATCCATGGTACCAGAC***T***CAAGATCAAA
SL.s_urm TTTTCAGGCCACAGAAGACCCAGCACAAACGGCATCCATGGTACCAGAC***T***CAAGATCAAA
SL.s_buk TTTTCAGGCCACAGAAGACCCAGCACAAACGGCATCCATGGTACCAGAC***C***CAAGATCAAA
************************************************* **********

SL.s_sar GAGGAGGGCACGAGGGACATAATTGTTTCCGCTG***G***CCGGGAGAAGCGGTCAGGAGTTCCA
SL.s_tur GAGGAGGGCACGAGGGACATAATTGTTTCCGCTG***A***CCGGGAGAAGCGGTCAGGAGTTCCA
SL.s_urm GAGGAGGGCACGAGGGACATAATTGTTTCCGCTG***G***CCGGGAGAAGCGGTCAGGAGTTCCA
SL.s_buk GAGGAGGGCACGAGGGACATAATTGTTTCCGCTG***G***CCGGGAGAAGCGGTCAGGAGTTCCA
********************************** *************************

SL.s_sar AAGCGTTTTCATAGATGCTGAAATTTTGAGGTACCCACCTCGCTAAAGTAAACGTTCATA
SL.s_tur AAGCGTTTTCATAGATGCTGAAATTTTGAGGTACCCACCTCGCTAAAGTAAACGTTCATA
SL.s_urm AAGCGTTTTCATAGATGCTGAAATTTTGAGGTACCCACCTCGCTAAAGTAAACGTTCATA
SL.s_buk AAGCGTTTTCATAGATGCTGAAATTTTGAGGTACCCACCTCGCTAAAGTAAACGTTCATA
************************************************************

SL.s_sar CGCCCCAGCTGGAAATCGGAGACGCCATAGTAACCATCCTGCCTTCAGATCCACTCCAAC
SL.s_tur CGCCCCAGCTGGAAATCGGAGACGCCATAGTAACCATCCTGCCTTCAGATCCACTCCAAC
SL.s_urm CGCCCCAGCTGGAAATCGGAGACGCCATAGTAACCATCCTGCCTTCAGATCCACTCCAAC
SL.s_buk CGCCCCAGCTGGAAATCGGAGACGCCATAGTAACCATCCTGCCTTCAGATCCACTCCAAC
************************************************************

SL.s_sar TTCTAATGCCATAT***G***TCC***C***CATCCTTCGAGGTGTATACAGGCTGTACCTACAACCCCGAG
SL.s_tur TTCTAATGCCATAT***G***TCC***T***CATCCTTCGAGGTGTATACAGGCTGTACCTACAACCTCGAG
SL.s_urm TTCTAATGCCATAT***G***TCC***T***CATCCTTCGAGGTGTATACAGGCTGTACCTACAACCCCGAG
SL.s_buk TTCTAATGCCATAT***A***TCC***T***CATCCTTCGAGGTGTATACAGGCTGTACCTACAACCCCGAG
************** *** ************************************ ****

SL.s_sar CCCT***T***TAAGGCCGTCTTCCCCAATATGTAATCAAGTTTCCAAACATTAGTTCAACTATAC
SL.s_tur CCCT***C***TAAGGCCGTCTTCCCCAATATGTAATCAAGTTTCCAAACATTAGTTCAACTATAC
SL.s_urm CCCT***C***TAAGGCCGTCTTCCCCAATATGTAATCAAGTTTCCAAACATTAGTTCAACTATAC
SL.s_buk CCCT***C***TAAGGCCGTCTTCCCCAATATGTAATCAAGTTTCCAAACATTAGTTCAACTATAC
**** *******************************************************

SL.s_sar TAAATCTAT
SL.s_tur TAAATCTAT
SL.s_urm TAAATCTAT
SL.s_buk TAAATCTAT
*********

**شکل ۵- همردیفی چندگانه توالی ناحیه اینترونی ژن *SUN* در چهار ژنوتیپ گوجه فرنگی (Urm: ارومیه، Buk: بوکان، Tur: ترکیه، Sar: سردشت)، (SNPها بصورت پررنگ و ایتالیک مشخص شدند)**

**Figure 5- Multiple alignment of the intron region of the SUN gene in four different tomato genotypes (Urm: Urmia, Buk: Bukan, Tur: Turkey, Sar: Sardasht), (SNPs are highlighted as bold and italic)**

**جدول ٤ -فراوانی SNPهای شناسایی شده در ژن OVATE در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی**

**Table 4- Frequency of the identified SNPs in *OVATE* gene in different tomato genotypes**

| نوع SNP<br>SNP type | تعداد SNP<br>Number of SNPs | درصد SNP<br>SNP percentage |
|---|---|---|
| **A/G** | 2 | 40 |
| **G/T** | 1 | 20 |
| **C/T** | 2 | 40 |

```
SL.o_tur      TCTCTGGGGAGCCGGCCCTGAAGGCTCCGGTGTGTAAGTAAAGCACGTATAACCCTTGAA
SL.o_qrz      TCTCTGGGGAGCCGGCCCTGAAGGCTCCGGTGTGTAAGTAAAGCACGTATAACCCTCGAA
SL.o_urm      TCTCTGGGGAGCCGGCCCTGAAGGCTCCGGTGTGTAAGTAAAGCACGTATAACCCTTGAA
SL.o_sar      TCTCTGGGGAGCCGGCCCTGAAGGCTCCGGTGTGTAAGTAAAGCACGTATAACCCTTGAA
              ******************************************************** ***

SL.o_tur      ACAACGACGAACATATGGCATTAGAAGTTGGAAAGGATCTGACGGCCAGGATAGTTACAA
SL.o_qrz      ACAACGACGAACATATGGCATTAGAAGTTGGAAAGGATCTGACGGCCAGGATAGTTACAA
SL.o_urm      ACAACGACGAACATATGGCATTAGAAGTTGGAAAGGATCTGACGGCCAGGATAGTTACAA
SL.o_sar      ACAACGACGAACATATGGCATTAGAAGTTGGAAAGGATCTGACGGCCAGGATAGTTACAA
              ************************************************************

SL.o_tur      TGGCTCCTCCCATCTCCAGCTGGAGCGTAAGAACGTCTACTTTAACGAGGTGCGTACCTC
SL.o_qrz      TGGCTCCTCCCATCTCCAGCTGGAGCGTAAGAACGTCTACTTTAACGAGGTGCGTACCTC
SL.o_urm      TGGCTCCTCCCATCTCCAGCTGGAGCGTAAGAACGTCTACTTTAACGAGGTGCGTACCTC
SL.o_sar      TGGCTCCTCCCATCTCCAGCTGGAGCGTAAGAACGTCTACTTTAACGAGGTGCGTACCTC
              ************************************************************

SL.o_tur      AAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGA
SL.o_qrz      AAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGA
SL.o_urm      AAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGA
SL.o_sar      AAAATTTCAGCATCTATGAAAACGCTTTGCAACTCCTGACCGCTTCTCCCGGCCAGCGGA
              ************************************************************

SL.o_tur      AACAAGTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCGTTGATCTTGAGCCCGGTACCATGGACGCCCTC
SL.o_qrz      AACAAGTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCGTTGATCTTGAGCCCGGTACCATGGACGCCCTC
SL.o_urm      AACAAGTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCGTTGATCTTGAGCCCGGTACCATGGACGCCCTC
SL.o_sar      AACAAGTATGTCCCTCGTGCCGTCCTCGTTGATCTTGAGCCCGGTACCATGGACGCCCTC
              ************************************************************

SL.o_tur      CGTGCCGGTCCCTTCGGTCAACTCTTCCGTCCCGACAACTTCGTTTTCGGCCAGTCCCGG
SL.o_qrz      CGTGCCGGTCCCTTCAGTCAACTCTTCCGTCCCGACAACTTCGTTTTCGGCCAGTCCCGG
SL.o_urm      CGTGCCGGTCCCTTCGGTCAACTCTTCCGTCCCGACAACTTCGTTTTCGGCCAGTCCCGG
SL.o_sar      CGTGCCGGTCCCTTCGGTCAACTCTTCCGTCCCGACAACTTCGTTTTCGGCCAGTCCCGG
              *************** ********************************************

SL.o_tur      TGCTGGTAAAACTGGGTAGGGTTCTTTATTCTTTTTGGTTTAAATTGGACGAAAAAAACGA
SL.o_qrz      TGCTGGTAAAACTGGGTAGGGTTCTTTATTCTTTTTGGTTTAAATTGGACGAAAAAAACGA
SL.o_urm      TGCTGGTAAAACTGGGTAGGGTTCTTTATTCTTTTTGGTTTAAATTGGACGAAAAAAACGA
SL.o_sar      TGCTGGTAAAACTGGGTAGGGTTCTTTATTCTTTTTGGTTTAAATTGGACGAAAAAAACGA
              ************************************************************

SL.o_tur      GACTCAAGAGACAGAAGAAATGACCGAAGGAACCGGCACGGACGGCGCCCATGGTCCCGG
SL.o_qrz      GACTCAAGAGACAGAAGAAATGACCGAAGGAACCGGCACGGACGGCGCCCATGGTCCCGG
SL.o_urm      GACTCAAGAGACAGAAGAAATGACCGAAGGAACCGGCACGGACGGCGCCCATGGTCCCGG
SL.o_sar      GACTCAAGAGACAGAAGAAATGACCGAAGGAACCGGCACGGACGACGCCCATGGTCCCGG
              ******************************************** ***************

SL.o_tur      GCTCAAAATCAACGAGGACGGCACGAGGGACATCCTTGTTTCCGTTGGCCGGGGAAGCGG
SL.o_qrz      GCTCAAAATCAACGAGGACGGCACGAGGGACATCCTTGTTTCCGTTGGCCGGGGAAGCGG
SL.o_urm      GCTCAAAATCAACGAGGACGGCACGAGGGACATCCTTGTTTCCGTTGGCCGGGGAAGCGG
SL.o_sar      GCTCAAAATCAACGAGGACGGCACGAGGGACATCCTTGTTTCCGTTGGCCGGGGAAGCGG
              ************************************************************

SL.o_tur      TCAGGAGTTCCAAAGCGTTTTCACAGATGCTGAAATTTTGAGGTACGCACCTCGTTAAAG
SL.o_qrz      TCAGGAGTTCCAAAGCGTTTTCACAGATGCTGAAATTTTGAGGTACGCACCTCGTTAAAG
SL.o_urm      TCAGGAGTTCCAAAGCGTTTTCACAGATGCTGAAATTTTGAGGTACGCACCTCGTTAAAG
SL.o_sar      TCAGGAGTTCCAAAGCGTTTTCACAGATGCTGAAATTTTGAGGTACGCACCTCGTTAAAG
              ************************************************************

SL.o_tur      TAGACTTTCATACGCCCCAGCGGGAGATGGGGGGGGCCATTGTAACTATCCTGGCCGTCA
SL.o_qrz      TAGACCTTCATACGCCCCAGCGGGAGATGGGGGGGGCCATTGTAACTATCCTGGCCGTCA
```

```
SL.o_urm        TAGACCTTCATACGCCCCAGCGGGAGATGGGGGGGGCCATTGTAACTATCCTGGCCGTCA
SL.o_sar        TAGACCTTCATACGCCCCAGCGGGAGATGGGGGGGGCCATTGTAACTATCCTGGCCGTCA
                ***** ******************************************************

SL.o_tur        GATCCATTCCAACTTCTAAAGCCCATATGGTCGTCTTTCGCTTCGAGGGGGTCTACGGCT
SL.o_qrz        GATCCATTCCAACTTCTAAAGCCCATATGGTCGTCGTTCGCTTCGAGGGGGTCTACGGCT
SL.o_urm        GATCCATTCCAACTTCTAAAGCCCATATGGTCGTCGTTCGCTTCGAGGGGGTCTACGGCT
SL.o_sar        GATCCATTCCAACTTCTAAAGCCCATATGGTCGTCGTTCGCTTCGAGGGGGTCTACGGCT
                *********************************** ************************

SL.o_tur        GTACCACACACCGAGCCCTTAAAGACCGTGCTCGCCAGAGACGGTCGCCCGCAATTTTCT
SL.o_qrz        GTACCACACACCGAGCCCTTAAAGACCGTGCTCGCCAGAGACGGTCGCCCGCAATTTTCT
SL.o_urm        GTACCACACACCGAGCCCTTAAAGACCGTGCTCGCCAGAGACGGTCGCCCGCAATTTTCT
SL.o_sar        GTACCACACACCGAGCCCTTAAAGACCGTGCTCGCCAGAGACGGTCGCCCGCAATTTTCT
                ************************************************************

SL.o_tur        GTCCTTGACCGGAAAGCCCTTTCCTGGAGTGATACGTGAGGCGTTCTCAGACATTTGGGA
SL.o_qrz        GTCCTTGACCGGAAAGCCCTTTCCTGGAGTGATACGTGAGGCGTTCTCAGACATTTGGGA
SL.o_urm        GTCCTTGACCGGAAAGCCCTTTCCTGGAGTGATACGTGAGGCGTTCTCAGACATTTGGGA
SL.o_sar        GTCCTTGACCGGAAAGCCCTTTCCTGGAGTGATACGTGAGGCGTTCTCAGACATTTGGGA
                ************************************************************

SL.o_tur        GACTTGTTTA
SL.o_qrz        GACTTGTTTA
SL.o_urm        GACTTGTTTA
SL.o_sar        GACTTGTTTA
                **********
```

**شکل ٦- همردیفی چندگانه توالی ژن *OVATE* در چهار ژنوتیپ گوجه فرنگی (Urm: ارومیه، Tur: ترکیه، Qrz: قره‌ضیاءالدین، Sar: سردشت)، (SNPها بصورت پررنگ و ایتالیک مشخص شدند)**

**Figure 6- Multiple alignment of the *OVATE* gene in four different tomato genotypes (Urm: Urmia, Tur: Turkey, Qrz: Qaraziaddin, Sar: Sardasht), (SNPs are highlighted as bold and italic)**

در تحقیقی با بررسی بیش از ۱۵ لاین گوجه فرنگی با استفاده از روش توالی یابی مجدد قطعات تکثیری، ۵۵ SNP شناسایی شد که ۲۹ SNP در ناحیه اینترونی و ۲۶ SNP در ناحیه اگزونی بود (۱۱). در تحقیق حاضر نیز در ناحیه اگزونی دو ژن *SUN* و *OVATE*، SNPهای کمتری مشاهده گردید. در تحقیق دیگری در بررسی ژن های ذرت گزارش شد که جهش‌های همجنس بیشتر از جهش‌های ناهمجنس می‌باشد. در این تحقیق ۶۲۵ جهش همجنس (A/G + T/C) و ۴۲۹ جهش ناهمجنس (A/C + A/T + G/C + G/T) مشاهده شد که نسبت جهش‌های همجنس به ناهمجنس ۱/۴۶ گزارش گردید (۱۵). در تحقیق حاضر نیز تعداد جهش‌های همجنس بیشتر از ناهمجنس بود بطوریکه ۸ جهش همجنس (A/G + T/C) و ۲ جهش ناهمجنس (G/T) در ژن *SUN* و ۴ جهش همجنس (A/G + T/C) و ۱ جهش ناهمجنس (G/T) در ژن *OVATE* مشاهده شد. همچنین در هر دو ژن نسبت جهش‌های همجنس به ناهمجنس ۴:۱ بود.

در مطالعه توالی ژنومی گیاه بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.)، ۴۴ SNP شناسایی شد (یک SNP به ازای هر ۱۰۱۱ جفت باز از توالی ژنومی) که بیش‌ترین SNPها مربوط به تبدیل بازهای C/T، G/A با فراوانی ۶۸/۲ درصد بود. در حالی‌که تبدیل بازهای C/A و G/T با فراوانی ۲۲/۷ درصد، (C/G) G/C با فراوانی ۶/۸ درصد و (T/A) A/T با ۲/۳ درصد کمترین فراوانی را داشتند (۸). در تحقیق حاضر نیز در ژن *SUN* ، ۸۰ درصدSNPها از نوع همجنس با فراوانی۳۰ درصد A/G و ۵۰ درصد T/C و ۲۰ درصد جهش ناهمجنس از نوع T/G بود. در ژن *OVATE* ۸۰ درصد جهش‌ها از نوع همجنس با فراوانی ۴۰ درصد G/A، ۴۰ درصد C/T و ۲۰ درصد جهش از نوع ناهمجنس از نوع G/T می‌باشد. در بررسی ۸۰ فرد از ۸ توده در گیاه ریحان در ژن‌های اوژنول O-متیل‌ترانسفراز و چاویکول O-متیل‌ترانسفراز، شش SNP در ژن اوژنول O-متیل ترانسفراز مشاهده شد که از نوع G/A و C/T بود. در ژن چاویکول O-متیل ترانسفراز، ۱۲ SNP از نوع G/A، C/T، G/C و A/T شناسایی شد که بیشترین نوع SNPها از نوع همجنس بود (۱). در تحقیق حاضر نیز در ژن *SUN* ۱۰ و در ژن *OVATE* ۵ SNP از نوع A/G، T/C و G/T مشاهده گردید. پیشنهاد می‌شود که از SNPهای شناسایی شده در این تحقیق در برنامه‌های اصلاح گوجه‌فرنگی برای تهیه نقشه‌های ژنتیکی با وضوح بالا و انتخاب ژنومی و نقشه‌یابی ارتباطی و مطالعه تکامل جمعیت استفاده شود. همچنین ارتباط بین SNPهای شناسایی

شده در این مطالعه و شکل میوه گوجه‌فرنگی به منظور معرفی نشانگرهای عملکردی بررسی شود و طبقه‌بندی‌های ژرم‌پلاسم مطالعه شده با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر SNPهای شناسایی شده در این تحقیق صورت گیرد.

## نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میانگین تعداد SNPها به ازای هر ۱۰۰ جفت باز در نواحی اگزونی و اینترونی ژن *SUN* به ترتیب ۰/۹ و ۱/۶۲ بود. همچنشن در ژن *OVATE* به ازای هر ۱۰۰ جفت باز نیم SNP در ناحیه اگزونی شناسایی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که چندشکلی در نواحی اگزونی ژن *SUN* کم می باشد. همچنین رایج‌ترین نوع جهش‌ها با توجه به هم ردیفی توالی ژن‌های مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف گوجه‌فرنگی از نوع جهش‌های همجنس A/G وT/C بود. در کل در توالی‌های بررسی شده این دو ژن، فراوانی SNPها در ژن *SUN* بیشتر از ژن *OVATE* بود.

## منابع


1- Aizi M., and Abdollahi Mandolkani B. 2017. Identification of SNPs in exonic regions of eugenol O-methyl transferase and chavicol O-methyl transferase genes in basil. Agricultural Biotechnology Journal 10(1): 117-105. (In Persian with English abstract)

2- Bai Y., and Lindhout P. 2000. Domestication and breeding of tomatoes: what have we gained and what can we gain in the future? Annals of Botany 100: 1085-1094.

3- Ching A., Caldwell K., Jung M., Dolan M., Smith O., and Tingey S. 2002. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. Bioorganic & Medicinal Chemistry Genetics 3(19): 1-14.

4- De Masi L., Castaldo D., Galano G., Minasi P., and Laratta B. 2006. Genotyping of fig (*Ficus carica* L.) via RAPD markers. Journal of the Science of Food and Agriculture 85: 22-35.

5- Frary A., Nesbitt TC., Frary A., Grandillo S., Van Der Knaap E., Cong B., Liu J., Meller J., Elber R., and Alpert KB. 2000. fw2.2: a quantitative trait locus key to the evolution of tomato fruit size. Science 289: 85-88.

6- Gaderi R., and Rezaei R. 2009. Common Guide and Tomato Cultivation. Tehran University, Press, 395p. (In Persian)

7- Gupta PK. 2008. Single-molecule DNA sequencing technologies for future genomics research. Trends in Biotechnology 26: 602-11.

**8-** Hackbusch J., Richter K., Muller J., Salamini F., and Uhrig JF. 2005 A. Central role of *Arabidopsis thaliana* ovate family proteins in networking and subcellular localization of 3-aa loop extension homeodomain proteins. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102: 4908-4912.

9- Huang X., Wei X., Sang T., Zhao Q., Feng Q., Zhao Y., Li C., Zhu C., Lu T., and Zhang Z. 2010. Genome-wide association studies of 14 agronomic traits in rice landraces. Nature Genetics 42: 961-967.

10- Jiang N., Gao D., Xiao H., Francis D., and Van der Knaap E. 2009. Genome organization of the tomato sun locus and characterization of the unusual retrotransposon Rider. Plant Journal 60: 181-193.

11- Joanne AL., and Angela MB. 2005. Tomato SNP discovery by EST mining and resequencing. Molecular Breeding 16: 343-349.

12- Kalloo G., and Bergh BO. 1993 Genetic improvement of vegetable crops. Pergamon Press, Oxford and New York, 833 p.

**13-** Klee HJ., and Giovannoni JJ. 2011. Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. Annual Review of Genetics 45: 41-59.

14- Liu J., Van Eck J., Cong B., and Tanksley SD. 2002. A new class of regulatory genes underlying the cause of pear-shaped tomato fruit. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99: 13302-13306.

15- Mammadov J., Chen W., Mingus J., Thompson S., and Kumptla S. 2012. Development of versatile gene-based SNP assay in maize (Z*ea mays* L.). Molecular Breeding 29: 77-790.

16- Paduchuri P., Gohokar S., Thamke B., and Subhas M. 2010. Transgenic tomatoes. Advanced Biotechnology and Research 2: 69-72.

17- Rodriguez GR., Munos S., Anderson C., Sim SC., Michel A., Causse M., McSpadden Gardener B B., Francis D., and van der Knaap E. 2011. Distribution of *SUN*, *OVATE*, *LC*, and *FAS* in the tomato germplasm and the relationship to fruit shape diversity. Plant Physiology 156: 275-285.

18- Rodriguez GR., Pratta M., and Zorzoli R. 2006. Evaluation of plant and fruit traits in recombinant inbred lines of tomato obtained from a cross between *Lycopersicon esculentum* and *L. pimpinellifolium*. Cienciae Investigation Agraria 33(2): 111-118.

19- Stommel JR., and Haynes KG. 1994. Inheritance of beta-carotene content in the wild tomato species *Lycopersicon cheesmani*. Journal of Heredity 85(5): 401-404.

20- The Tomato Genome Consortium. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. Nature 485: 635-641.

21- Wu S., Xiao H., Cabrera A., Meulia T., and Knaap E. 2011. *SUN* regulates vegetative and reproductive organ shape by changing cell division pattern. Plant Physiology 157(3): 1175-1186.

22- Xiao Z., Kapteyn J., and Gang D.R. 2008. A systems biology investigation of the MEP/terpenoid and shikimate/phenylpropanoid pathways points to multiple levels of metabolic control in sweet basil glandular trichomes. The Plant Journal 54(3): 349-361.

23- Yang W., Bai X., Eaton C., and Kamoun E. 2004. Discovery of single nucleotide polymorphisms in (*Lycopersicon esculentum)* by computer aided analysis of expressed sequenced tags. Molecular Breeding 14: 21-34.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 169-182
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۸۲-۱۶۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Studying SNPs in *SUN* and *OVATE* Genes Responsible for Fruit Shape in Tomato

**S. Khzereloo[1]- B. Abdollahi Mandoulakani[2*]**
Received: 26-06-2019
Accepted: 16-02-2021

**Introduction:** Commercial tomato (*Solanum lycopersicum* L.), one of the most widely grown vegetable crops worldwide, belongs to the Solanaceae family. The marketability of the commercial tomato mostly depends on the fruit quality. Tomato fruit quality is determined mainly by color, texture, shape and flavor. Fruit shape, one of the important traits affecting the quality of tomato fruit, is controlled by multiple minor genes and quantitatively inherited. Two important genes, involved in fruit shape, are *SUN* and *OVATE* genes. The *SUN* gene, which is a member of the IQD (IQ-domain) gene family and the Calmodulin binding protein, controls fruit length. The more expression of both *SUN* and *OVATE* genes leads to increased fruit length. Moreover, the increased expression of *OVATE* gene reduces the size of flower and leaf components. Due to the important role of these genes in tomato fruit shape, identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) as a new generation of robust, frequent and reliable bi-allelic markers, in the coding regions of these genes might be necessary for generating functional markers associated with fruit shape.

**Materials and Methods:** Seeds of 96 tomato genotypes from 12 populations were grown in the research greenhouse of Faculty of Agriculture and Natural Resources of Urmia University. The genotypes had been collected from different regions of West Azerbaijan of Iran and Turkey (Iğdır). The young and green plant leaves were used for genomic DNA extraction. The quality and quantity of the extracted DNA was assessed using spectrophotometry and agarose gel electrophoresis. To identify SNPs in *SUN* and *OVATE* genes, specific primers were designed by using FastPCR and Gene Runner software for amplifying fragments from coding regions of these genes in 96 tomato genotypes. Then, the amplified fragments of both genes were digested by using restriction enzymes *TruI* and *PstI*. Due to the lack of polymorphism in the digested patterns obtained by the used enzymes, four individuals from populations with close geographical distance were selected and amplified. The amplified bands were then purified by a purification kit (Kiagen, USA) and sequenced (Bioneer, South Korea). Sequencing was performed from both ends of the PCR fragments using both the forward and reverse primers used in the PCR reactions. The exon and intron regions of the sequenced fragments were identified by Softberry software. Following the retrieval of the sequenced fragments of each gene using FastPCR and Softberry software, multiple sequence alignment using Clustal Omega was used to identify SNPs in the exon and intron of the genes.

**Results and Discussion:** Digestion of the amplified fragments of the genes using *TruI* and *PstI* restriction enzymes produced no polymorphism in the studied genotypes. Thus, four individuals were selected from geographically different populations and gene fragments were amplified, purified and sequenced in these genotypes. Sequencing of the amplified fragment of *SUN* gene revealed an intron region with a size of 369 bp. Out of the 10 SNPs detected in the *SUN* gene, four was found in the exon region, while the number of SNPs in intron was six. Of the total SNPs found in the *SUN* gene, the percentage of transition and transversion substitutions was 80 (50% T/C and 30% A/G) and 20 (T/G), respectively. In the *OVATE* gene, five SNPs were identified. The percentage of transition (40% G/A and 40% C/T) and transversion (20% G/T) substitutions in this genes were the same as *SUN*. The ratio of transition to transversion substitutions was 1:4 for both genes. The average number of SNPs in a 100 bp fragment in exonic and itronic region of *SUN* was 0.9 and 1.62, respectively, while it was 0.5 for exonic region of *OVATE* gene.

**Conclusion:** The results of the current study revealed low polymorphisms and point mutations in the exon regions of *SUN* and *OVATE* genes, suggesting that the coding regions of these genes were conserved during the tomato evolution. Also, the number of SNPs in intron was more than those of exon. Considering the important role of fruit quality, especially fruit shape, in tomato market, the SNPs found in the current study may be used in genetic diversity studies, genetic map preparation, and saturation and identification of the functional markers

1 and 2- M.Sc. Graduate in Agricultural Biotechnology and Professor, Department of Plant Production and Genetics, Urmia University, Urmia, respectively.
(*- Corresponding Author Email: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61531.0

associated with tomato fruit shape. These markers could accelerate tomato breeding programs aimed fruit shape improvement.

**Keywords**: Fruit Shape, Single nucleotide polymorphism, Tomato, Transition substitution

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 183-194
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۹۴-۱۸۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# اثر القای پلی‌پلوییدی درون شیشه‌ای بر تنوع صفات مورفولوژیکی و سیتولوژیکی بنفشه آفریقایی *Saintpaulia ionantha* **Wendl.**

اکرم امیری[۱]- محمود شور[۲*]- مینا تقی زاده[۳]- سید حسین نعمتی[۴]- علی تهرانی فر[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۰۱

## چکیده

بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) یک گیاه زینتی مشهور با شکل و رنگ‌های متنوع است و به عنوان یک گیاه مدل عالی جهت مطالعات باززایی در شرایط درون شیشه‌ای مطرح می‌باشد. این پژوهش با هدف القاء پلی پلوئیدی در شرایط درون شیشه‌ای و با استفاده از غلظت های مختلف کلشی‌سین انجام گرفت. گیاهچه‌های حاصل از کشت درون شیشه‌ای در مرحله پرآوری تحت تیمار کلشی‌سین قرار گرفتند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور غلظت در سه سطح ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد و مدت زمان تیمار در سه سطح ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام گرفت. صفات ظاهری و آناتومیکی گیاهچه‌های باززایی شده مورد بررسی قرار گرفت. القای تتراپلوئیدی به‌گونه‌ای موفقیت آمیز توسط بررسی صفات مختلف ظاهری و بررسی‌های میکروسکوپی و فلوسایتومتری تایید شد. تیمار ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت در القای پلی پلوئیدی در بنفشه آفریقایی تحت شرایط درون شیشه‌ای موثر بود. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که تلفیق روش کشت درون شیشه‌ای با القای تتراپلوئیدی به‌عنوان یک روش سریع و کارآمد برای بدست آوردن اشکال و صفات جدید در گیاهان باززایی شده درون شیشه‌ای بنفشه آفریقایی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** باززایی، فلوسایتومتری، کلشی‌سین، میکسوپلوئید

## مقدمه

جنس بنفشه آفریقایی (*Saintpaulia* sp.) رایج‌ترین جنس شناخته شده در بین گیاهان خانواده Gesneriaceae است. این گیاه بومی مناطق شرق افریقا شامل کنیا و تانزانیاست و ۲۵ گونه دارد که گونه‌ی *ionantha* از مهم‌ترین گونه‌های آن است (۳۱). از آن‌جایی که بنفشه آفریقایی کروموزوم‌های کوچکی دارد که تمایل به چسبندگی به یکدیگر را دارند تعداد کروموزوم‌های آن به اشتباه ۲n=۲x=۲۸ گزارش شده بود (۱). با مطالعات دقیق‌تر آنالیزهای سیتولوژیکی نشان داده شده است که تعداد کروموزوم‌های این گونه ۲n=۲x=۳۰ است (۷). این جنس برگ و گل‌های زیبایی دارد که نامنظم[۶] هستند و رنگ‌ها و شکل‌های متنوعی دارند (۲۸ و ۲۹). تولید گیاهانی مانند بنفشه آفریقایی که علاوه بر زیبایی بسیار زیاد گل‌های آنان به دلیل توانمندی تولید گل در طول سال مورد توجه تولیدکنندگان تجاری آن واقع شده، دارای پیشرفت چشمگیری بوده، طوری که پرورش این گونه گیاهان خود در حوزه علم باغبانی جهان به شکل صنعت در آمده است.

پلی پلوئید کردن گیاهان، از راه‌های ایجاد تنوع و ترکیب خصوصیات مطلوب در گیاهان به شمار می‌رود. برای دست‌یابی به گیاهان پلی پلوئید می‌توان از ماده شیمیایی کلشی‌سین بعنوان کارامدترین ماده موثر بر روی تیوبولین بعنوان زیرواحد میکروتوبول ها استفاده کرد که از تشکیل رشته‌های دوک جلوگیری نموده و موجب

۱- دانش آموخته دکتری گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد علوم و تحقیقات، تهران
۲، ۴ و ۵- به‌ترتیب دانشیار، استادیار و استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: Shoor@um.ac.ir
۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اراک، دانشگاه اراک، اراک

DOI: 10.22067/jhs.2021.58723.0

۶- زیگومورف

دو برابر شدن محتوای ژنتیکی سلول‌های در حال تقسیم می شود (۲). دو برابر کردن کروموزوم‌ها در شرایط درون شیشه‌ای (*in vitro*) و درون موجود (*in vivo*) قابل انجام است. روش دو برابر کردن کروموزوم‌ها در شرایط درون شیشه‌ای دارای یک‌سری مزایا مانند: تیمار تعداد بیشتری گیاه با حجم کمتری از مواد، کنترل شرایط آزمایش، اثر سمیت کمتر مواد شیمیایی، درصد موفقیت زیاد و امکان تیمار میکروسپور، کشت تعلیقی سلول و کالوس می‌باشد (۲۱). پلی پلوئیدها اغلب دارای سلول‌های بزرگ‌تر، برگ‌های ضخیم‌تر، رشد کندتر، میزان آب بیشتر و تأخیر گلدهی همراه با افزایش دوره آن را نشان می‌دهند (۱۵). حجم سلول‌های تتراپلوئید در مقایسه با گیاهان دیپلوئید معمولاً دو برابر می‌باشد. در حالی که سطح سلولی آن‌ها ۱/۵ برابر است. بنابراین زمانی که تولید سلول به فعالیت متابولیکی سطح سلول مرتبط باشد یک مزیت محسوب می‌گردد. البته محدودیت‌هایی در زمینه تولید گیاهان اتوتترا پلوئید وجود دارد، برای مثال بزرگ‌تر شدن جثه در اثر تتراپلوئید ممکن است وابسته به گونه و ژنوتیپ باشد. ضمناً در بعضی موارد برگشتگی سطح پلوئیدی به حالت پایه اولیه نیز مشاهده شده است، بنابراین می‌توان گفت که هر گیاهی به سطح پلوئیدی خاصی تحمل نشان می‌دهد (۱۶). به‌نژادگران از این روش برای اهلی‌سازی و بهبود تجاری برخی از ژنوتیپ‌ها بهره‌برداری می کنند (۳۲). پلی پلوئیدی باعث افزایش اندازه گل، تشدید رنگ گل و تغییر شکل گیاه می‌گردد. تحت شرایط درون شیشه‌ای پلی‌پلوئیدی کاربرد موفقیت‌آمیزی در چندین گیاه زینتی مانند ارکیده (۳۲)، پروانش (۱۲) و شمعدانی (۱۳) داشته است. در طی چند دهه گذشته پلی پلوئیدی به‌گونه‌ای کارآمد موجب افزایش سطح پلوئیدی گیاهان زینتی شده است. تیمار قطعات ساقه‌ای جعفری در شرایط درون شیشه‌ای با کلشی‌سین ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد به‌طور موثری باعث افزایش پلوئیدی که همراه با افزایش سلول‌های روزنه و کاهش تعداد آنها بود مشاهده شد (۲۲).

در این مطالعه پلی‌پلوئید کردن گیاهان دیپلوئید بنفشه آفریقایی با قرار دادن شاخساره‌های باززایی شده درون شیشه‌ای در معرض ماده شیمیایی کلشی‌سین و تعیین بهترین غلظت و زمان تیمار و ارزیابی انواع تنوع حاصل در گیاهان سازگار شده در سطح صفات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی به منظور ایجاد بستری مناسب برای تحقیقات به‌منظور بهبود صفات زینتی این گیاه بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و اجرای تیمارها

در این آزمایش شاخساره‌های حاصل از کشت بافت ریز نمونه‌های برگی بنفشه آفریقایی در مرحله پرآوری در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA، در معرض تیمارهای کلشی‌سین قرار گرفتند. برای تهیه محلول کلشی‌سین در غلظت‌های مورد نظر، مقدار لازم از پودر کلشی‌سین (سیگما) با رعایت مسائل ایمنی توزین و در دی متیل سولفوکساید ۳ درصد حل شد. نحوه انجام آزمایش به این ترتیب بود که گلوله‌های پنبه‌ای استریل در زیر هود لامینارفلو با محلول های کلشی‌سین در غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد آغشته گردیدند و بر روی مریستم شاخساره ها در شیشه‌های کشت قرار گرفتند و در فاصله‌های زمانی ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت شاخساره‌های تیمار شده از شیشه‌های کشت خارج و پس از شست و شو با آب مقطر استریل در محیط کشت مناسب پرآوری (محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیترBA) کشت شدند. شاخساره‌ها پس از دو ماه به شرایط برون شیشه‌ای و در بستر کشت شامل کوکوپیت –پرلایت انتقال یافتند.

### صفات مورد ارزیابی

درصد زنده مانی گیاهچه‌ها هر یک ماه یک بار تا ماه سوم انجام گرفت و شامل شمارش گیاهچه‌های از بین رفته بود. مقایسات مورفولوژیکی در مورد گیاهان تیمار شده و گیاه شاهد پس از انتقال گلدان‌ها به گلخانه انجام گرفت و شامل اندازه‌گیری صفات رویشی مانند طول، عرض و ضخامت و تعداد برگ، طول و قطر دمبرگ با استفاده از کولیس دیجیتالی بود. مقایسه سایر صفات رویشی از قبیل رنگ برگ، رنگ رگبرگ، شکل نوک برگ، حاشیه برگ‌ها و تراکم کرک به صورت چشمی انجام گرفت. لازم به ذکر است که در مورد این صفات همه گیاهان با گیاه مادری مقایسه گردید.

به منظور ارزیابی‌های میکروسکوپی از اپیدرم فوقانی برگ گیاهان تیمار شده و شاهد به طور جداگانه نمونه‌هایی برای مقایسه اندازه سلول‌ها تهیه گردید و بر روی لام قرار داده شد و پس از قرار دادن لامل به روی آن‌ها، توسط میکروسکوپ نوری با عدسی شیئی ۴۰x مقایسات مربوطه انجام شد. همچنین آنالیز سطح پلوئیدی گیاهان تیمار شده با کلشی‌سین پس از این که این گیاهان به خوبی رشد یافتند توسط دستگاه فلوسایتومتر (partecpA, Germany) صورت گرفت. نحوه‌ی آماده‌سازی نمونه‌ها برای آنالیز فلوسایتومتری به این ترتیب بود که از برگ‌های کاملاً رشد یافته قطعاتی به اندازه ۰/۵ سانتی متر مربع تهیه گردیده، ۴۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج هسته (محلول A کیت دستگاه، partec) به روی آن‌ها ریخته شد و با تیغ تیز به نحوی که از له‌شدگی بافت جلوگیری شود، مقطع برگی به خوبی خرد گردید. سپس محلول حاصله از فیلترهای مخصوص دستگاه عبور داده شد و ۱۶۰۰ میکرو لیتر محلول رنگ آمیزی هسته ۴ و ۶- دی آمیدیو – ۲ فنیل ایندول (DAPI، محلول B کیت) به آن اضافه گردید و پس از ۳۰ تا ۶۰ ثانیه برای شمارش در دستگاه قرار داده شد. به طور معمول برای هر نمونه حجم حداقل ۵۰۰۰ هسته توسط دستگاه اندازه‌گیری و پیک‌های به دست آمده توسط نرم‌افزار

Mode Fit تفسیر گردید. (۵ و ۱۰).

### طرح آماری و تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت طرح فاکتوریل ۳×۳ انجام گرفت. فاکتور اول غلظت کلشی‌سین در سه سطح ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد و فاکتور دوم زمان تیمار در سه سطح ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت با ۶ تکرار و ۶ مشاهده در هر تکرار بود. نمونه‌های شاهد بدون اعمال تیمار در نظر گرفته شدند. تجزیه آماری داده‌ها در کلیه آزمایشات با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد و مقایسه میانگین تیمارها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

### اثر کلشی‌سین بر زنده مانی گیاهچه‌های تیمار شده

تأخیر در رشد گیاهچه‌ها اولین تأثیر قابل رؤیت در اعمال تیمار کلشی‌سین بود. همان‌طور که در جدول ۱ قابل ملاحظه است، در شرایط درون شیشه‌ای پس از گذشت سه ماه فقط شاخساره های تیمار شده با غلظت ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین در هر سه زمان زنده ماندند و با افزایش زمان تیمار از درصد زنده مانی گیاهچه‌ها کاسته شد، به طوری که درصد زنده مانی در این غلظت در زمان‌های ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۷۷/۷۶، ۶۱/۱۱ و ۲۷/۷۷ درصد بود.

**جدول ۱- اثر تیمارهای کلشی‌سین بر درصد زنده مانی گیاهچه‌های بنفشه آفریقایی در شرایط درون شیشه‌ای**

**Table 1- Effect of colchicine treatments on survival percentage of African violet plantlet sin *in vitro* culture**

| غلظت کلشی‌سین<br>Colchicine density (%) | مدت زمان تیمار<br>Duration of treatment (hour) | زنده مانی<br>Survival (%) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | The first month<br>ماه اول | The second month<br>ماه دوم | The third month<br>ماه سوم |
| 0.02 | 18 | 100.00 | 83.33 | 77.76 |
| | 24 | 72.22 | 63.88 | 61.11 |
| | 48 | 50.00 | 30.55 | 27.77 |
| 0.05 | 18 | 30.55 | 19.44 | 0.00 |
| | 24 | 25.00 | 13.88 | 0.00 |
| | 48 | 8.33 | 5.55 | 0.00 |
| 0.1 | 18 | 27.77 | 16.66 | 0.00 |
| | 24 | 11.11 | 5.55 | 0.00 |
| | 48 | 5.55 | 0.00 | 0.00 |
| 0<br>Control<br>شاهد | | 100.00 | 100.00 | 100.00 |

غلظت‌های زیاد کلشی‌سین مخصوصاً بیشتر از ۰/۲ درصد در بسیاری از آزمایشات سبب مرگ همه یا تعدادی از نمونه‌ها گردیده و این رابطه معکوس بین غلظت کلشی‌سین و زمان استفاده از آن با بقاء نمونه‌ها در مورد مطالعات درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای در گیاهان مختلف صادق است (۴). در مطالعاتی که بر روی گل داوودی[1] انجام شده بود، از غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد کلشی‌سین به مدت ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت بر روی ریز نمونه های اپی کوتیل و هیپوکوتیل جوانه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شده بود. نتایج نشان داده بود که بیش از ۹۰ درصد از جوانه‌های انتقال یافته به محیط کشت MS حاوی کلشی‌سین به تدریج از بین رفتند و با افزایش زمان غوطه وری در کلشی‌سین سرعت بقاء به طور معنی‌داری کاهش یافته بود (۱۷). در تحقیقی که بر روی گیاه ریحان[2] انجام شد، غلظت‌های بالاتر کلشی‌سین باعث از بین رفتن درصد بالاتری از گیاهان شدند (۱۸). در این تحقیق نیز کاملاً بدیهی است که با افزایش زمان و غلظت کلشی‌سین از میزان مقاومت گیاهچه‌ها کاسته شده است. به نظر می‌رسد فعالیت کلشی‌سین ممکن است در مریستم متمرکز باشد و یک اختلال فیزیولوژیکی در کاهش تقسیم سلولی و یا مرگ ریز نمونه ها ایجاد کند (۲۵).

### اثر کلشی‌سین بر صفات ظاهری گیاهچه‌های تیمار شده

ویژگی‌های مورفولوژیک صفات رویشی و زایشی گیاهان تتراپلوئید نسبت به دیپلوئید به منظور امکان استفاده از این پارامترها در تعیین تتراپلوئیدهای احتمالی در شرایط درون شیشه‌ای مورد

1- *Chrysantemum cinerariifolium*

2- *Ocimum basilicum* L.

ارزیابی قرار گرفت. از آن جا که فقط گیاهچه‌های تیمار ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین در هر سه زمان ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت زنده ماندند. بنابراین نتایج مربوط به اثر این تیمار بر صفات رویشی و زایشی تجزیه و در جدول تجزیه واریانس ۲ و ۳ ارائه شد و پنج صفت رنگ، نوک و حاشیه برگ، رنگ رگبرگ و تراکم کرک نیز به صورت مقایسه چشمی مورد ارزیابی قرار گرفت. اثر تیمار کلشی‌سین بر روی طول و قطر دمبرگ، ضخامت و عرض برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که طول دمبرگ گیاهان شاهد (۲۳/۶۲ میلی‌متر) به طور معنی‌داری از گیاهان تیمار شده بیشتر بود که این نشان دهنده اثر کلشی‌سین در ایجاد رشد کپه ای و کوتاهی قد در گیاهان تیمار شده است. در مقایسه میانگین آزمون دانکن (جدول ۳) در سطح احتمال ۵ درصد، بیشترین قطر دمبرگ به ترتیب مربوط به گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین به مدت ۴۸ ساعت (۲/۴۸ میلی‌متر)، پس از آن ۲۴ ساعت (۲/۳۱ میلی‌متر) و سپس ۱۸ ساعت (۱/۹۴ میلی‌متر) و در انتها شاهد (۱/۵۴ میلی‌متر) بود. به عبارت بهتر با افزایش زمان در معرض بودن مریستم شاخساره‌ها در کلشی‌سین میزان اثرگذاری آن بر قطر دمبرگ افزایش یافته است (جدول ۳). با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) این نتیجه مشاهده شد که، اگر چه تیمار مورد نظر بر طول برگ‌های بنفشه آفریقایی اثر معنی داری نداشته است. اما تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۱ درصد بر عرض برگ‌ها گذاشته است، به طوری‌که عرض برگ‌های گیاهان تیمارشده نسبت به شاهد بیشتر بود. این نشان‌گر این است که تیمار کلشی‌سین در ظاهر برگ‌ها نیز تأثیر داشته و برگ‌های گیاهان پلی پلوئید نسبت به شاهد پهن‌تر بوده است (جدول ۳). ضخامت برگ در گیاهانی که مدت زمان بیشتری در معرض کلشی‌سین قرار گرفته بودند از شاهد بیشتر بود، به طوری‌که بیشترین ضخامت برگ‌ها مربوط به تیمار ۴۸ ساعت با ۱/۹۷ میلی‌متر بود و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد با ۰/۸۹ میلی‌متر بود (جدول ۳). طبق جدول تجزیه واریانس ۴ اثر تیمارها بر صفات زایشی قطر گل و تعداد گلبرگ در سطح احتمال ۱ درصد و بر تعداد گل در هر گل آذین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. بر اساس جدول مقایسه میانگین ۵، قطر گل و تعداد گلبرگ در گیاهان تیمار یافته نسبت به شاهد بیشتر بود و بین تیمارهای زمانی ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌دار نبود. بیشترین تعداد گل در گل آذین در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب با تولید ۵/۲ و ۵/۸ گل در گل آذین بود. کم‌ترین تعداد گل هم در گیاهان شاهد با تولید میانگین ۳/۲۰ گل در گل آذین مشاهده شد.

**جدول ۲- تجزیه واریانس صفات رویشی بنفشه آفریقایی تحت تیمار کلشی‌سین در شرایط درون شیشه‌ای**
**Table 2- ANOVA for vegetative traits of African violet treated by colchicine in *in vitro* culture**

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | تعداد برگ Leaf number | طول دمبرگ Petiole length | طول برگ Leaf length | عرض برگ Leaf width | قطر دمبرگ Petiole diameter | ضخامت برگ Leaf thickness |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Time زمان | 3 | 26.44ns | 164.09** | 56.24ns | 167.11** | 2.93** | 2.72** |
| Error خطا | 43 | 19.95 | 8.18 | 25.36 | 22.82 | 0.23 | 0.12 |

ns: عدم تفاوت معنی دار و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ns: Non-Significant, and ** significant at 0.01 of probability levels.

**جدول ۳- اثر غلظت ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین در تیمارهای زمانی ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت بر صفات رویشی در شرایط درون شیشه‌ای**
**Table 3- The effect of colchicine 0.02% for 18, 24 and 24 hours on vegetative traits of African violet in *in vitro* culture**

| غلظت کلشی‌سین Colchicine concentration (%) | زمان Time (hours) | طول دمبرگ Petiole length (mm) | عرض برگ Leaf length (mm) | قطر دمبرگ Petiole diameter (mm) | ضخامت برگ Leaf thickness (mm) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.02 | 18 | 16.75b | 28.36a | 1.94bc | 1.64b |
| | 24 | 16.34b | 27.98a | 2.31b | 1.84ab |
| | 48 | 16.79b | 26.31a | 2.84a | 1.97a |
| 0 Control شاهد | – | 23.62a | 20.82b | 1.54c | 0.89c |

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different at 5% of probability level based on Duncan’s multiple range test.

جدول ٤- تجزیه واریانس صفات زایشی بنفشه آفریقایی تحت تیمار کلشی‌سین در شرایط درون شیشه‌ای

Table 4- ANOVA for reproductive traits of African violet treated by colchicine in *in vitro* culture

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | قطر گل Flower diameter (mm) | تعداد گلبرگ Number of petal | تعداد گل در هر گل آذین Number of Flower in inflorescence | ارتفاع گل آذین Height of inflorescence(mm) |
|---|---|---|---|---|---|
| Time زمان | 3 | 31.18** | 5.51** | 6.31* | $35.54^{ns}$ |
| Error خطا | 16 | 2.57 | 0.75 | 1.35 | 19.98 |

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

ns: Non-Significant, * and ** significant at 0.05 and 0.01 of probability levels, respectively.

جدول ٥- اثر غلظت ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین در تیمارهای زمانی ۱۸، ٢٤ و ٤٨ ساعت بر صفات زایشی بنفشه آفریقایی در شرایط درون شیشه‌ای

Table 5- The effect of colchicine 0.02% for 18, 24 and 24 hours on reproductive traits of African violet in *in vitro* culture

| غلظت کلشی‌سین Colchicine concentration (%) | زمان Time (hours) | قطر گل Flower diameter (mm) | تعداد گلبرگ Number of petal | تعداد گل در هر گل آذین Number of flower in inflorescence | ارتفاع گل آذین Height of inflorescence (mm) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.02 | 18 | 41.14a | 7.20a | 4.40ab | 79.99a |
| | 24 | 41.11a | 7.60a | 5.20a | 81.91a |
| | 48 | 40.58a | 6.60a | 5.80a | 79.35a |
| Control شاهد | – | 35.98b | 5.20b | 3.20b | 85.29a |

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Numbers followed by the same letter are not significantly different at 5% of probability level based on Duncan's multiple range test.

استفاده از کلشی‌سین با غلظت‌ها و زمان‌های متفاوت بر روی گیاهان مختلف به ویژه گیاهان زینتی به منظور تولید گیاهان با سطح پلوئیدی بالاتر در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. موفقیت سایر مواد شیمیایی در تولید پلی پلوئیدی به اندازه کلشی‌سین نمی‌باشد. به نظر می‌رسد اثرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی پلی پلوئیدی بر حسب نوع گیاه متفاوت است. به طور کلی گیاهان تتراپلوئید معمولاً اندامی بزرگ‌تر، ساقه‌های ضخیم‌تر، برگ‌های کلفت‌تر، گل‌های بزرگ‌تر و میوه‌های درشت‌تری دارند (۱۲). در این تحقیق نیز برخی از این تغییرات به وضوح دیده شد. تولید میوه‌های بزرگ‌تر و بدون هسته با استفاده از تیمار کلشی‌سین در ازگیل ژاپنی[1] گزارش شده است (۳). تقریباً بدون استثناء پلی پلوئیدی سبب افزایش اندازه سلول و به خصوص بافت‌های مریستمی می‌شود. همچنین سلول‌های روزنه و دانه‌های گرده گیاهان پلی پلوئیدی که توسط کلشی‌سین تولید شده‌اند بزرگ‌تر هستند. در آزمایشی که بر روی سوسن[2] ارقام Con. Amore و Acapulco با استفاده از کلشی‌سین بر روی جوانه‌های گل جوان در شرایط درون شیشه‌ای انجام شده بود، نتایج بیانگر آن بود که بعد از ایجاد تیمار با کلشی‌سین قطر دانه‌های گرده ۳۰ درصد افزایش یافته بود و کلاله نیز بزرگ‌تر و گوشتالود شده بود (۱۱). در گل داوودی نیز با اعمال تیمار کلشی‌سین در شرایط درون شیشه‌ای اندازه سلول‌های روزنه گیاهان تتراپلوئید ۱/۵۳ برابر بزرگ‌تر از گیاهان دیپلوئید بود (۱۷). ضخامت برگ‌ها در گیاهان پلی پلوئید به علت افزایش اندازه سلول‌ها بیشتر است. معمولاً برگ‌ها کوتاه‌تر ولی پهن‌تر می‌باشند. در این تحقیق نیز ضخامت برگ‌های تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. همچنین طول دمبرگ ها نیز در هر دو شرایط کمتر از شاهد بود که این می‌تواند نشان دهنده رشد کپه‌ای و کوتاهی قد در گیاهان تیمار شده باشد. از نظر شکل و اندازه برگ‌ها نیز گیاهان تتراپلوئید نسبت به دیپلوئید به طور عمده در گیاهان تیمار شده بزرگ‌تر بود و البته تعداد برگ‌ها نسبت به گیاهان دیپلوئید کمتر و کندی رشد آن‌ها به طور واضح قابل تشخیص بود.

نتایج مقایسه ظاهری نمونه‌ها نشان داد که رنگ برگ گیاهان شاهد شبیه به رنگ برگ گیاهان مادری بود. برگ‌های گیاهان مربوط به تیمار ۲۴ ساعت به طور متوسط از برگ‌های گیاهان مادری کم رنگ‌تر و گیاهان تیمار شده در ۱۸ و ۴۸ ساعت پر رنگ‌تر از سایر

1- *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl

2- Oriental lilies

گیاهان و به رنگ تیره بودند. به دلیل این که در میان گیاهان تیمار شده بنفشه آفریقایی از نظر رنگ رگبرگ‌ها تنوع زیادی دیده شد، تصمیم گرفته شد رگبرگ‌ها از نظر رنگ در ۵ گروه زیر دسته‌بندی گردند: برگ‌های معمولی که رگبرگ‌های فرعی و اصلی با سایر قسمت‌های برگ هم رنگ بود (شبیه گیاهان مادری)، گیاهانی که رگبرگ اصلی و فرعی کم رنگ‌تر از سایر قسمت‌های پهنک بود، گیاهانی که قسمت‌های پایین و نزدیک دمبرگ کم رنگ‌تر بود، گیاهانی که رگبرگ اصلی کم رنگ‌تر از سایر قسمت‌های برگ بود و گیاهانی که دارای رگبرگ اصلی کم رنگ و فرعی پررنگ بود. نتایج نشان داد که رگبرگ‌های گیاهان شاهد و زمان ۲۴ ساعت به رگبرگ‌های گیاهان مادری شبیه بودند، در حالی که در تیمار ۱۸ ساعت به طور متوسط برگ‌ها دارای رگبرگ اصلی کم رنگ و فرعی پررنگ بودند و در تیمار ۴۸ ساعت اکثر گیاهان دارای رگبرگ اصلی کم رنگ‌تر از سایر قسمت‌های برگ بودند (شکل ۱).

**شکل ۱- تنوع در شکل، رنگ، رگبرگ، نوک و حاشیه برگ حاصل از اعمال تیمار کلشی‌سین بنفشه آفریقایی در شرایط درون شیشه‌ای**

**Figure 1- Variation in form, color, vein, tip and margins of African violet leaf resulted from colchicine treatment in *in vitro*culture**

از نظر نوک برگ، برگ‌ها در سه دسته نوک تیز، معمولی و گرد قرار گرفتند. با توجه به مقایسه چشمی نمونه‌ها مشخص شد، شکل نوک برگ‌ها در تیمار ۱۸ و ۴۸ ساعت همانند شاهد به صورت معمولی و مانند گیاه مادری بودند. اما نوک برگ‌ها در تیمار ۲۴ ساعت به صورت تیز بود. در چند مورد در تیمار ۱۸ ساعت و در یک مورد در تیمار ۴۸ ساعت هم نوک برگ‌ها به صورت گرد دیده شد. شکل حاشیه برگ‌ها نیز شامل صاف و کنگره دار بود. تقریباً همه گیاهان دارای حاشیه صاف بودند. اگرچه در چند مورد در گیاهان تیمار شده مربوط به تیمار ۰/۰۲ درصد ۱۸ ساعت است، حاشیه برگ‌ها کنگره‌دار بوده و تفاوت آن با گیاهان شاهد به وضوح قابل تشخیص بود (شکل ۲).



**شکل ۲- نمونه‌ای از گیاهان باززایی شده تحت تیمار ۰/۰۲ درصد به مدت ۱۸ ساعت با برگ‌های بنفشه آفریقایی دارای حاشیه کنگره دار و تغییر یافته حاصل از شرایط درون شیشه‌ای (A) در مقایسه با گیاه شاهد با برگ های لبه صاف (B)**

**Figure 2– A sample of regenerated African violet plant treated by 0.02% colchicine for 18 hour with serrated and modified margin in leaves (A) in comparison with control plants with smooth marigin in leaves (B)**

تا کنون گزارشی راجع به اعمال کلشی‌سین بر روی شاخساره های حاصل از کشت بافت بنفشه آفریقایی دیده نشده است. فقط گزارش‌هایی مبنی بر اعمال تیمار کلشی‌سین بر قلمه‌های برگی بنفشه آفریقایی وجود دارد. سینویرتنه و همکاران (۲۰) تولید گیاهانی با خصوصیات جدید با استفاده از کلشی‌سین بر روی قلمه‌های بنفشه آفریقایی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایشات آنان نشان داد که ارتفاع گل آذین با تیمار کلشی‌سین به طور معنی‌داری کاهش یافت و در برخی از تیمارها افزایش تعداد گلبرگ، تغییر رنگ گل‌ها و شکل برگ‌ها دیده شد و نتیجه کلی آزمایشات آن‌ها بیانگر وابستگی موتاسیون القا شده به غلظت و زمان بود که با نتایج این تحقیق

مطابقت داشت.

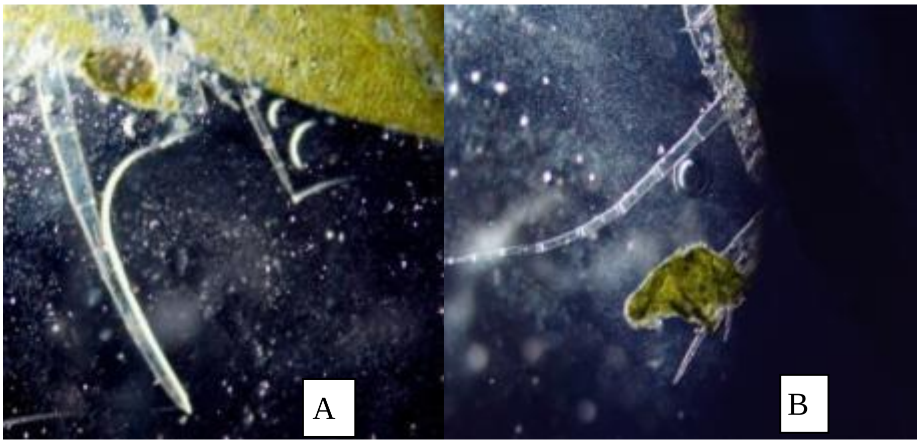
تأخیر در گل‌دهی نیز به دلیل کندی رشد از دیگر اثرات کلشی‌سین می‌باشد. در این آزمایش‌ها دیده شد که گیاهان شاهد رشد قابل ملاحظه‌ای نسبت به گیاهان تیمار شده داشت و پس از انتقال به شرایط برون شیشه‌ای پس از ۲ هفته به گلدان‌های بزرگ‌تر انتقال یافتند، در حالی که گیاهان تیمار شده پس از ۱۸ هفته آماده انتقال به گلدان‌های بزرگ‌تر بودند (شکل ۳). گیاهان شاهد پس از ۲۰ هفته گل دادند، در حالی که اولین گل در گیاهان تیمار شده با ۱۲ هفته تأخیر یعنی پس از ۳۲ هفته ظاهر شد و در بعضی از تیمارها تا ۲۴ هفته تأخیر مشاهده شد. به طور کلی درجه رشد پلی پلوئیدها کمتر از دیپلوئیدها می‌باشد (۲۵). در مقایسه درجه رشد گیاهان پلی‌پلوئید و دیپلوئید، مشاهده شده است که مقدار هورمون اکسین که مسئول رشد می‌باشد، در گیاهان پلی پلوئید کمتر بوده و گل‌دهی گیاهان پلی‌پلوئید به تأخیر می‌افتد و مدت گل‌دهی افزایش می‌یابد (۸). گفته شده است که پاسخ اندام‌های سوماتیکی به فعالیت کلشی‌سین نسبت به سلول‌های میوزی راحت‌تر است (۲۴).

**شکل ۳- مقایسه رشد گیاه شاهد (گلدان سمت چپ) و گیاهان تیمار یافته با کلشی‌سین (گیاهان سمت راست) در بنفشه آفریقایی**

**Figure 3- Comparison between the growth of control (pot left) and colchicine treated plants (plants right) in African violet**

## اثر تیمار کلشی‌سین بر صفات میکروسکوپی گیاهچه‌های تیمار شده

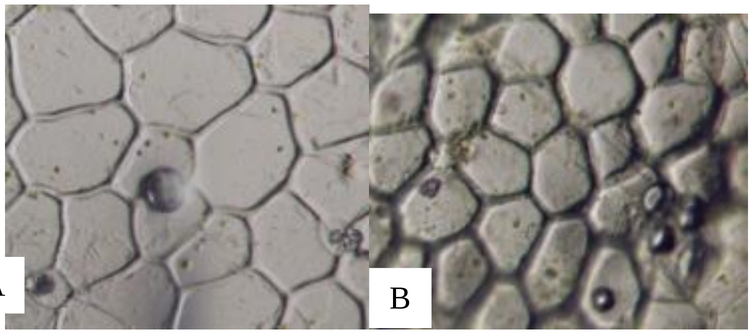
از نظر تراکم کرک، نمونه‌ها در سه دسته شامل تراکم کرک خیلی کم، متوسط و گیاهان با کرک‌های خیلی زیاد تقسیم‌بندی شدند. نتایج نشان داد که تراکم کرک در تیمارهای ۱۸ و ۲۴ ساعت خیلی کم بود، در حالی که در تیمار ۴۸ ساعت و شاهد تراکم کرک‌ها متوسط بود. در تیمار ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت در یک تکرار در مقایسه با سایر تیمارها کرک‌های گیاه بسیار بلند و متراکم بود، به طوری که حتی با چشم غیر مسلح نیز دیده می‌شد. تصویر میکروسکوپی شکل۴ بلند بودن کرک‌های گیاه تیمار شده را در مقابل گیاه شاهد نشان می‌دهد.




**شکل ٤- مقایسه کرک‌های برگ گیاه بنفشه آفریقایی (بزرگنمایی ٤x) تیمار شده با ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین به مدت ۲٤ ساعت در شرایط درون شیشه‌ای در (A) و گیاه شاهد (B)**

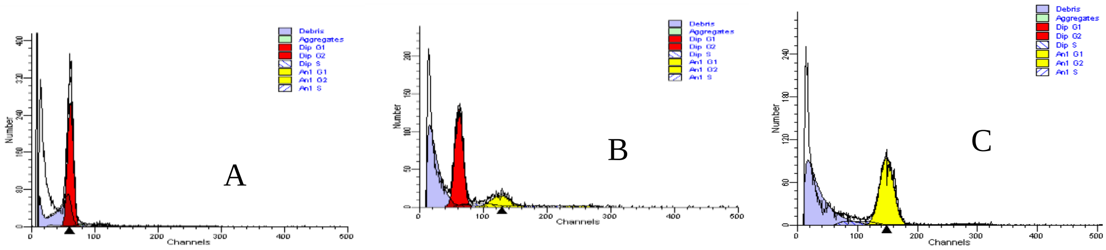
**Figure 4- Compare leaves trichomes of treated (A) African violet by colchicine 0.02% for 24 hours *in vitro* conditions (4x) and control plant (B)**

همان طور که در شکل ۵ دیده می‌شود، بزرگ‌تر بودن سلول‌های اپیدرمی و محافظ روزنه سلول‌های تتراپلوئید نسبت به نمونه‌های دیپلوئید کاملاً مشهود است، که این می‌تواند به عنوان یک ملاک قوی در تشخیص و جداسازی گیاهان بنفشه آفریقایی با سطوح پلوئیدی مختلف تلقی گردد. در حقیقت می‌توان چنین اظهار نمود که افزایش اندازه سلولی یکی از اثرات عمومی القاء تتراپلوئیدی در بنفشه آفریقایی باشد. به نظر می‌رسد که این یک اثر ژنتیکی است و افزایش اندازه در همه اندام‌ها از قبیل دانه گرده، سلول‌های روزنه، بذر، گل، برگ و ساقه را به همراه دارد (۲۰). طبق گفته مسترسون (۱۹) حجم سلول‌های تتراپلوئید حدود دو برابر و سطح غشای آن‌ها حدود یک و نیم برابر سلول‌های دیپلوئیدمی‌باشد که این باعث بزرگ‌تر شدن جثه گیاهان در پاسخ به پلی پلوئیدی می‌شود. پیش از این لیو و گاو (۱۷) با استفاده از تصاویر میکروسکوپی که از روزنه‌های سلول‌های پلی پلوئید در مقایسه با سلول‌های دیپلوئید تهیه کرده بودند، بزرگ‌تر بودن روزنه‌های گیاهان پلی پلوئیدی داوودی را در مقایسه با گیاهان دیپلوئید با استفاده از تصاویر میکروسکوپی نشان دادند. در بنفشه آفریقایی روزنه‌ها بسیار سخت دیده می‌شدند، بنابراین اندازه سلول‌های اپیدرمی به عنوان معیار بزرگ‌تر بودن سلول‌ها در نظر گرفته شد. دهقان (۵) نیز با مقایسه میکروسکوپی سلول‌های اپیدرم در نمونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید گیاه بذرالبنج مصری، بزرگ‌تر بودن سلول‌های اپیدرمی نمونه‌های تتراپلوئید را نشان داد.




**شکل ۵- تصاویر میکروسکوپی سلول‌های اپیدرم بنفشه آفریقایی در نمونه‌های دیپلوئید (A) و تتراپلوئید (B) (درشت نمایی ٤٠x)**
**Figure 5- Mmicroscopic pictures (40x) of African violet epidermal cells in diploid (A) and tetraploid samples**

برای تمام گیاهان تیمار شده با کلشی‌سین و چند گیاه شاهد دیپلوئید به عنوان شاهد، آنالیز فلوسایتومتری صورتپذیرفت. بر اساس پیک‌های به دست آمده از فلوسایتومتری، گیاهان در سه دسته دیپلوئید، میکسوپلوئید و تتراپلوئید قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل ۶ دیده می‌شود، گیاهان تتراپلوئید دارای یک پیک با میانگین ۱۵۰ است، در حالی که نمونه دیپلوئید یک پیک با میانگین ۶۰ را نشان می دهد. نمونه‌های میکسوپلوئید پیک‌های مربوط به گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید را همزمان نشان داده و دارای دو پیک است که میانگین پیک اول ۶۰ و پیک دوم ۱۲۰ است که حاکی از وجود سلول‌های دیپلوئید و تتراپلوئید در آن‌ها می‌باشد.




**شکل ٦- هیستوگرام فلوسایتومتری تراکم فلورسنسی نسبی هسته سلولی بنفشه آفریقایی. A: دیپلوئید، B: میکسوپلوئید، و C: تتراپلوئید**
**Figure 6- Representative flow cytometer histograms of the relative fluorescence intensity of nuclei isolated from African violet. Diploid profile (A), Mixoploid (B), and Tetraploid (C)**

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش زمان کلشی‌سین از تعداد گیاهان دیپلوئید کاسته شده و به گیاهان میکسوپلوئید و تتراپلوئید افزوده گشته است. غیور (۹) در آزمایشات فلوسایتومتری که بر روی گیاهچه‌های تیمار یافته ژربرا با اوریزالین در

شرایط درون شیشه‌ای انجام داده بود، همین نتیجه را گزارش کردند.

نتایج فلوسایتومتری گیاهان تیمار شده با کلشی‌سین در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که با افزایش زمان تیماردهی از ۱۸ به ۴۸ ساعت از میزان گیاهان دیپلوئید کاسته شده است. به طوری‌که میزان گیاهان دیپلوئید در سه زمان ۱۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب ۲۳/۵۲، ۱۴/۲۸ و ۰ درصد بود، در عوض با افزایش زمان تیماردهی به درصد گیاهان تتراپلوئید و میکسوپلوئید افزوده شده است و همان طور که در جدول ۶ ملاحظه می‌شود، در شرایط درون شیشه‌ای در هر سه زمان بیشتر گیاهان تیمار شده میکسوپلوئید شده‌اند.

**جدول ٦- درصد گیاهان دیپلوئید، میکسوپلوئید و تتراپلوئید بنفشه آفریقایی در شرایط درون شیشه‌ای**

**Table 6- The percentage of diploid, Mixoploid and tetraploid plants of African violet in *in vitro* conditions**

| غلظت کلشی‌سین<br>Colchicine concentration (%) | زمان<br>Time (hours) | دیپلوئید<br>Diploid (%) | میکسوپلوئید<br>Mixoploid (%) | تتراپلوئید<br>Tetraploid (%) |
|---|---|---|---|---|
| | 18 | 23.52 | 64.70 | 11.76 |
| 0.02 | 24 | 14.28 | 64.28 | 21.42 |
| | 48 | 0.00 | 80.00 | 20.00 |

در آزمایشی که بر روی گیاه *Mecardonia tenella* در غلظت‌های ۰، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۱ درصد برای ۲۴ و ۴۸ ساعت در ریز نمونه‌های قطعات گره‌ای در شرایط درون شیشه‌ای صورت گرفته بود، نتایج حاصل از آزمایشات فلوسایتومتری نشان داده بود که بیش از ۵۰ درصد گیاهانی که تحت تأثیر کلشی‌سین قرار گرفته بودند، دارای محتوای DNA دو برابر بودند و هیچ‌کدام از گیاهان دیپلوئید نبودند (۶). ایجاد گیاهان میکسوپلوئید از این نظر که مریستم گیاهان از سلول‌های زیادی تشکیل شده و ممکن است تمایل جذب کلشی‌سین در آن‌ها متفاوت باشد دور از انتظار نمی‌باشد (۲۷). از عوامل دخیل که می‌تواند در تولید میکسوپلوئید نقش داشته باشد، تأثیر انحصاری کلشی‌سین بر سلول‌های در حال تقسیم است. بنابراین پلی‌پلوئیدی به طور مساوی در تمام سلول‌های نمونه رخ نداده و میکسوپلوئیدی را به همراه خواهد داشت (۲۰).

بطور کلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تیمار گیاهچه‌های باززایی شده با ۰/۰۲ درصد کلشی‌سین به مدت ۱۸ ساعت در شرایط درون شیشه‌ای بهترین تیمار به منظور ایجاد تنوع در بنفشه آفریقایی می‌تواند باشد. گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید از نظر خصوصیات مورفولوژیک رویشی مانند اندازه، ضخامت، تعداد، حاشیه، نوک و رنگ برگ و زایشی مانند تعداد گل و گلبرگ، قطر گل و همچنین اندازه سلول‌های اپیدرمی با یکدیگر تفاوت محسوسی نشان دادند، به نحوی که این تفاوت‌ها می‌توانند معیار تقریباً مناسبی جهت جداسازی گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید از یکدیگر باشند. نتایج حاصل از فلوسایتومتری نشان داد که با افزایش زمان کلشی‌سین از تعداد گیاهان دیپلوئید کاسته شده و به گیاهان میکسوپلوئید و تتراپلوئید افزوده گشته است. اغلب گیاهان میکسوپلوئید بودند.

## منابع

1- Adisorn C. 2004. Lessen operaitingcytogenetic in agriculture. Department of Horticulture, Chaing Mai University, Thailand.
2- Arzani A., and Darvey N.L. 2001. The effect of colchicine on triticale anther-derived plants: Microspore pre-treatment and haploid-plant treatment using a hydroponic recovery system. Euphytica 122: 235-241.
3- Blasco M., Badenes M., and Naval M. 2015. Colchicine-induced polyploidy in loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 120(2): 453-461.
4- Chen L.L. and S.L. Gao. 2007. *In vitro* tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in *Astragalus membranaceus*. Science Horticulture 112: 339-344.
5- Dehghan A. 2009. Evaluation of Tetraploid Induction effects on *Hyoscyamus muticus* L. hairy roots. MSc thesis. Ferdowsi University, Mashad 117 pp. (In Persian)
6- Escandon S., Liliana M., and Alderete C. 2007. *In vitro* polyploidization of *Mecardonia tenella*, a native plant from South America. Scientia Horticulturae 115: 56–61.
7- Farjadi- Shakib M., Mousavi A. and Naderi R. 2012. Optimization of chromosomal preparation and cytological analysis of *in vitro* cultured African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Acta Hort 937: 917-922.
8- Farsi M. and Bagheri A.R. 1998. Principal of plant breeding. Mashhad Jahad Daneshgahi publishing. 296 pp. (In Persian)

9- Ghayour Z. 2007. Gerbera tissue culture and evaluation tetraploid plant production by colchicine. MSc Thesis. Ferdowsi University, Mashad, 140 pp.
10- Gu X.F., Yang A.F., Meng H., and Zhang J.R. 2005. *In vitro* induction of tetraploid plants from *Ziziphus jujube* Mill. Cv. Zhanhua. Plant Cell Report 24: 671-676.
11- Hongzhi W., Sixiang Zh., Yueqiu H., Guijun Y., Yufen B., and Youyong Zh. 2007. Diploid female gametes induced by colchicine in Oriental lilies. Scientia Horticulturae 114: 50–53.
12- Hosseini H.R., Chehrazi M., Nabati Ahmadi D., and Mahmoodi Sorestani M. 2014. Effect of Colchicine Treatment on the Autotetraploidy Induction and MorphoPhysiological Traits Alteration in *Catharanthus roseus* cv. alba. Plant Production Technology 13(2): 55-62. (In Persian)
13- Jadrn P., Plavcov O., and Kobza F. 2010. Morphological changes in colchicine-treated *Pelargonium* × *hortorum* L.H. Bailey greenhouse plants. Horticulture Science 37(1): 27–33.
14- Khan S., Nassb S., and Ali K. 2007. Callus induction, plant regeneration and acclimization of African violet (*Saintpaulia ionantha*) using leaves as explants. Pakistan Journal Botanic 39(4): 1263-1268.
15- Kondorosi E., Roudier F., and Gendrau E. 2000. Plant cell-size: growing by ploidy? Current Opinion in Biotechnology 3: 488-492.
*16*- Lavania U.C. 2005. Genomic and ploidy manipulation for enhanced production of phyto pharmaceuticals. Plant Genetic Resources 3:170-177.
17- Liu Z., and Gao S. 2007. Micropropagation and Induction of Autotetraploid Plants of *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.). *In Vitro* Cellular and Developmental Biology: Plant 43(5): 404-408.
18- Malekzadeh S., Ghani A., Habibi M., and Amiri A. 2011. Evaluation ploidy induction by colchicine in *Ocimum basilicum* L. Journal of Horticultural Science 25: 461-469. (In Persian)
19- Masterson J. 1994. Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. Science 264: 421-424.
20- Omezzine F., Ladhari A., Nefzi F., Harrath R., Aouni M., and Haouala R. 2012. Induction and flow cytometry identification of mixoploidy through colchicine treatment of *Trigonella foenum-graecum* L. African Journal of Biotechnology 11(98): 16434-16442.
21- Rao S.P., and Suprasanna P. 1996. Methods to double haploid chromosome numbers in *In Vitro* Haploid Production in Higher Plants, S. M. Jain, S. K. Sopory, and R. E. Velleux, Eds. vol. 1, pp. 317–339, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
22- Sajjad Y., Jaskani M.J., Mehmood M., Ahmad I., and Abbas H. 2013. Effect of colchicine on *in vitro* polyploidy induction in African marigold (*Tagetes erecta*). Pakistan Journal Botanic 45(3): 1255-1258.
23- Senvirtne K.S.C.N., Krishnarajah S.A., Wijesundara D.S.A., and Palipane P.W.U.B. 2002. Colchicine induced floral variations African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). Annals of the Serilanka Departmant of Agriculture 4: 227-232.
*24*- Sharma A.K., and Sharma A. 1980. Chromosome techniques theory and practice. Archan. 3$^{th}$ edn. Kailsh Baloni. India pp.312.
25- Swanson C.P. 1957. Cytology and cytogenetics. Prentice Hall, Englewood, cliffs, New Jersey.
26- Takamura T., Lim K.B., and Van J.M. 2002. Effect of a new compound on the mitotic polyploidization of *Lilium longiflorum* and oriental hybrid Lilies. ISHS Acta Horticulturae 572: 37-42.
27- Tambong J.T., Sapra V.T., and Garton S. 1998. *In vitro* induction of tetraploids in colchicine-treated cocoyam plants. Euphytica 104: 191–197.
28- Tatsuzawa F., and Hosokawa M. 2016. Flower colors and their anthocyanins in Saintpaulia cultivars (Gesneriaceae). Hortic. J. 85: 63–69.
29- Teixeira da Silva J.A., Dewir Y.H., Wicaksono A., Kher, M.M., Kim H.-H., Hosokawa M.,Zeng S.-J. 2016. Morphogenesis and developmental biology of African violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.). J. Plant Dev. 23: 15–25.
30- Thao N.T.P., Ureshino K., Miyajima L., Ozaki Y., and Okubo H. 2003. Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicine and oryzalin treatments. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 72: 19-25.
31- The Plant List, 2017. *Saintpaulia*. http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q= *Saintpaulia* (last accessed: 30 March, 2017).
32- Van Tuyl M., and Lim K. 2003. Interspecific Hybridization and Polyploidization as Tools in Ornamental. Acta Hort 612, ISHS.
33- Wongprichachan P., Huang K., Hsu Sh., Chou Y., Liu T., and Okubo H. 2013. Induction of Polyploid *Phalaenopsis amabilis* by N2O Treatment J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 58(1): 33‑36.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 183-194
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۱۹۴-۱۸۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Effects of *In vitro* Ployploidy Induction on Morphological and Cytological Traits Variation in *Saintpaulia ionantha* Wendl.

**A. Amiri[1]- M. Shoor[2*]- M. Taghizade[3]- H- Nemati[4]- A. Tehranifar[5]**

Received: 28-07-2018
Accepted: 22-07-2020

**Introduction:** The genus of African violet is the most common genus known among the plants of Gesneriaceae family. This genus has beautiful leaves and flowers that are zygomorph. African violet (*Saintpaulia ionantha*) is a famous ornamental plant due to its various colors and shapes that an excellent model system for *in vitro* regeneration studies because of its tissue culture amenability. Besides the importance of this plant in plant production industry and increasing need for new plant varieties with desired traits, more studies for creating African violet with new features by increasing the ploidy level under the in vitro conditions were not done until now. Polyploidy is a widespread phenomenon in the evolution of flowering plant and a key in plant speciation and diversification. Polyploid plants have been used in plant breeding programs for developing superior varieties and restoring the fertility of interspecific or intergeneric hybrids. Polyploidy in ornamental crops were successfully obtained under in vitro conditions. The chemical colchicine can be used as the most effective substance to obtain polyploid plants. In vitro polyploidization has number of advantages such as treatment of more plants with less material, control of test conditions, lower toxicity of chemicals and high success rate. This study with the aim of polyploid induction was carried out by different concentrations of colchicine at various periods under *in vitro* conditions.

**Materials and Methods:** The best treatment for the shoot regeneration and proliferation was MS medium with 2 mg/l BA after optimizing the tissue culture process. The study performed as follows: plantlets grown under in vitro in proliferation stage were treated with colchicine. The experiment was carried out in a 2-factorial manner based on a completely randomized design and factors were colchicine concentration at 0.02, 0.05, 0.1% and treatment duration for 18, 24, 48 hours. Evaluated characters of regenerated plants were as follows: plantlets survival percentage (the first month, the second month and the third month), morphological traits (include leaf number, petiole length, leaf length, leaf width, petiole diameter, leaf thickness and variation in form, vein, tip and margins leaf), reproductive traits (flower diameter (mm), number of petal, number of flower in inflorescence, height of inflorescence (mm)), microscopic epidermal cells in samples of diploid and tetraploid and ploidy levels. Assessment of flow cytometery was also used for all of the treated plants with colchicine and some diploid control plants and were expressed in the form of the percentage of diploid, mixoploid and tetraploid plants of African violet.

**Results and Discussion:** Results indicated that tetraploidy induction successfully was changed different morphological and cytological characteristics. Plantlets of treated with 0.02% colchicine in all three times only survived after three months, and with increasing treatment time, plantlets survival percentage was reduced. Thus 0.02% colchicine treatment for 24 hour found effective in inducing *in vitro* culture polyploidy of African violet. Comparison of the leaves of tetraploid with diploid plants indicated that the leaves of tetraploid plants in length and width were bigger than the diploid ones. The selected tetraploid plants showed a more compact shape than the control plants. Other results revealed that the treated plants with colchicine showed delayed growth. The assessment of microscopic indicated that the epidermal cells of tetraploid were larger than diploid. The results of flow cytometery evaluation showed that with increasing duration of colchicine, the number of diploid plants reduced and were added to mixoploid and tetraploid plants. Most plants were mixoploid.

**Conclusion:** The results of this study showed that the diploid and tetraploid plants indicated significant differences in term of morphological traits like leaf number, petiole length, leaf length, leaf width, petiole

1- Graduated Ph.D, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2, 4 and 5- Associate Professor, Assistant Professor and Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: Shoor@um.ac.ir)
3- Associate Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2021.58723.0

diameter, leaf thickness and variation in form, vein, tip and margins leaf, reproductive traits like flower diameter, number of petal, number of flower in inflorescence and also size of epidermal cells and flow cytometery evaluation. These differences can be suitable criterion for separating diploid and polyploid plants from each other. Generally, the combination of tissue culture methods and tetraploidy induction can be used as a rapid strategy for achieving new forms and properties of regenerates *in vitro* on African violet.

**Keywords**: Colchicine, Flow cytometry, Mixoploidy, Regeneration

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 195-208
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۰۸-۱۹۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# واکنش توده‌های بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) به جهت‌های جغرافیایی ردیف کاشت در شرایط کم آبیاری و خاک شور

نسرین شهابی[۱]- علیرضا ابدالی مشهدی[۲*]- محمدحسین قرینه[۳]- امین لطفی جلال آبادی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۸

## چکیده

در شرایط نامناسب محیطی با ایجاد میکروکلیما امکان افزایش عملکرد وجود دارد؛ در این راستا در شرایط خاک شور و سدیمی و کم‌آبیاری آزمایشی در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در شمال شرقی اهواز به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل جهت جغرافیایی کاشت (شاهد (کاشت مسطح غیر خطی) وکاشت در جوی در جهت‌های شمالی- جنوبی، شرقی- غربی، شمال شرقی- جنوب غربی، شمال غربی- جنوب شرقی) و توده‌های بابونه (اهواز، اصفهان و شیراز) بود. بالاترین تعداد گل در بوته (۷۸/۵) و عملکرد گل خشک (۱۲۶ گرم در متر مربع) در جهت کاشت شمال- جنوب و بیش‌ترین عملکرد بیولوژیک (۴۱۷ گرم در متر مربع) در جهت کاشت شمال غربی- جنوب شرقی در تیمار توده اصفهان به‌دست آمد. بالاترین درصد اسانس (۱/۰۶ درصد) در توده اصفهان در جهت شرق- غرب مشاهده شد. کم‌ترین (۳/۱۴ کیلوگرم در هکتار) و بالاترین (۱۰/۱ کیلوگرم در هکتار) عملکرد اسانس در توده اصفهان و به ترتیب در کاشت مسطح غیر خطی و جهت شرق- غرب مشاهده شد که ۲۲۱ درصد افزایش را نشان داد. بالاترین درصد کامازولن در توده اهواز (شمال- جنوب)، بی‌فارنسن در توده شیراز (جنوب غربی- شمال شرقی) و آلفا- بیسابولون اکساید آ در توده اصفهان (شمال- جنوب) به‌دست آمد. کم‌ترین ضریب استهلاک نوری (۰/۵۰) در کشت مسطح مشاهده شد. به‌طور کلی کاشت ردیفی در جوی و در جهت جغرافیایی مناسب می‌تواند یک روش بسیار کم هزینه برای افزایش محصول باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ضریب استهلاک نوری، عملکرد اسانس، کامازولن، گیاه دارویی

## مقدمه

گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده کاسنی (Asteraceae) است که کاربردهای دارویی بسیار دارد. بررسی‌های پیشین نشان داده‌اند که کامازولن (Chamazulene)، آلفا-بیسابولون اکساید آ (α-Bisabolone oxide A) و بی فارنسن (b-Farnesene) از اجزای اصلی اسانس بابونه آلمانی هستند. اسانس بابونه به‌واسطه وجود کامازولن آبی رنگ است که به آهستگی اکسیده شده و به رنگ سبز درآمده و در نهایت قهوه‌ای رنگ می‌گردد (۲۲). کامازولن خواص درمانی متعدد دارد از جمله باعث کاهش کلسترول کل و تری‌گلیسرید شده و در کل خاصیت ضد غلظت بالای لیپوپروتئین (Hyperlipidemia) در خون دارد (۲۷). فارنسن به مانند یک فرمون هشدار دهنده توسط گونه‌های زیادی از شته‌ها تولید می‌شود (۱۵). آلفا-بیسابولون اکساید آ یکی از اجزای عمده اسانس بابونه است و به همراه سایر اجزای اسانس بابونه پتانسیل آن را دارد که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان طبیعی مورد استفاده قرار گیرد (۲۴). گیاهان به‌طور مداوم در معرض تنش‌های محیطی قرار دارند. در درون یک منطقه با شرایط نامناسب آب و هوایی می‌توان با ایجاد خُرد اقلیم شرایط زیستی را برای گیاه مناسب‌تر و قابل تحمل‌تر ساخت. انسان با ایجاد ساختمان و حیوانات با ایجاد آشیانه خود را از آسیب‌های محیطی مانند گرما و سرمای شدید و نیز تابش شدید آفتاب حفظ می‌کنند. در کشاورزی نیز با ایجاد سازوکارهایی، خرد اقلیم‌هایی ایجاد می‌گردد که شرایط رشد گیاهان را بهبود می‌بخشد. برای مثال در باغبانی، با ایجاد سایه‌انداز و یا گلخانه، گیاهان از شرایط نامساعد محیطی حفظ می‌شوند. در زراعت نیز می‌توان با عملیات آگروتکنیک،

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشیار و استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
(*- نویسنده مسئول: Email: alirezaabdali@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61645.0

اقدام به ایجاد خُرد اقلیم مناسب برای گیاه نمود. برای مثال در مناطقی که خاک دارای شوری بالا است تجمع نمک بر روی پشته متمرکز شده و میزان شوری در جوی کمتر است. در مناطق بسیار گرم و خشک کشت گیاه در جوی و در جهت شمال-جنوب، به‌واسطه سایه‌اندازی پشته‌ها بر روی جوی در هنگام صبح و بعد از ظهر به ویژه در مرحله جوانه‌زنی و رشد مقدماتی، نور کمتری جذب شده لذا درجه حرارت خاک کف جوی و کانوپی کم‌تر از جهت کاشت شرق-غرب خواهد بود. این موضوع با توجه به ارتفاع کم گیاه بابونه به‌واسطه رشد کُند، بطئی و آهسته‌ی آن در ابتدای مراحل رشد باعث می‌گردد ارتفاع گیاه برای مدت زمان طولانی کم‌تر از پشته باشد در نتیجه تاثیرگذاری جهت جغرافیای ردیف کاشت بیش‌تر خواهد بود. در آزمایشی بیش‌ترین عملکرد ماده خشک سورگوم در جهت شمالی-جنوبی به‌دست آمد (۱۷). اثر جهت ردیف کاشت بر جذب نور روزانه بیش‌تر در ۲۵ درجه عرض جغرافیایی صورت می‌گیرد. در خط استوا در بیش‌تر ایام سال جهت شمال-جنوب بیش‌ترین جذب نور را دارد. در عرض‌های بالاتر، تا ۵۵ درجه، جذب بیش‌تر نور در جهت شمال-جنوب در طول ماه‌های تابستان و در جهت شرقی- غربی برای بقیه سال اتفاق می‌افتد، اما با افزایش عرض جغرافیایی از اثر بخشی جهت کاشت بر جذب نور کاسته می‌گردد. از عرض جغرافیایی ۶۵ درجه به بالا بیش‌ترین جذب نور در جهت شرقی- غربی صورت می‌گیرد هر چند که تفاوت آن جزئی است. در این عرض‌های جغرافیایی اثر جهت کاشت بر جذب نور از اثر روزهای ابری کم‌تر است زیرا در این مناطق تعداد روزهای ابری زیادتر از سایر مناطق است (۱۶). در برخی موارد کاشت توده‌های گیاهی در مناطقی غیر از خواستگاه اصلی باعث ایجاد تغییرات در رشد و نمو، کمیت و کیفیت عملکرد می‌گردد. در هر منطقه‌ای تعیین بهترین رقم به همراه مناسب‌ترین جهت کاشت، می‌تواند کمیت و کیفیت محصول را بهبود بخشد. در آزمایشی بر روی گیاه دارویی خار مریم (*Silybum marianum* L.) در شرایط آب و هوایی اهواز مشخص شد که توده اصفهان نسبت به توده محلی گل سفید و گل بنفش اهواز به ترتیب ۲/۸۱ و ۲/۰۹ برابر سیلیمارین بیش‌تری داشت و دوره‌ی رشد آن ۲۶ روز طولانی‌تر بود (۱). در آزمایشی ۲۰ توده بابونه آلمانی در ایران به‌همراه پنج واریته اروپایی مورد بررسی قرار گرفت و تنوع بالایی در عملکرد بیولوژیک، عملکرد اقتصادی، تعداد گل در بوته و درصد اسانس مشاهده شد (۱۳). با توجه به موارد ذکر شده، در این آزمایش هدف ارزیابی اثر توده‌های مختلف بابونه و نیز جهت‌های جغرافیایی خطوط کشت (به‌واسطه میکروکلیمایی که ایجاد می‌کند) بر عملکرد کمی و کیفی گیاه بابونه آلمانی بود.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در ۳۶ کیلومتری شمال شرقی اهواز با عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۵۳ دقیقه شرقی، با ارتفاع ۲۲ متر از سطح دریا اجرا شد. طرح آماری و اجرای این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار بود. عوامل آزمایش شامل سه توده بابونه (اهواز، اصفهان، شیراز) و جهت کشت (کشت مسطح (شاهد)، کشت در جوی در جهت‌های شمال- جنوب، غرب - شرق، جنوب غربی- شمال شرقی و جنوب شرقی- شمال غربی) بود. براساس آمار هواشناسی بلندمدت، متوسط بارندگی سالیانه حدود ۲۷۰ میلی‌متر، میانگین دمایی حداقل ۹/۵، متوسط ۲۳ و حداکثر ۳۶ درجه سلسیوس، از لحاظ اقلیمی در گروه مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارد. میانگین ماهیانه برخی از پارامترهای هواشناسی منطقه طی دوره رشد در جدول ۱ ارائه شده است. به‌منظور بررسی خصوصیات خاک محل آزمایش، قبل از کاشت و شروع آزمایش از چهار قسمت از خاک مزرعه در دو عمق صفر تا ۳۰ و ۳۰ تا ۶۰ سانتی‌متر به‌طور جداگانه نمونه‌برداری به‌عمل آمد و پس از خرد کردن کلوخه‌ها، نمونه‌ها از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. در نهایت برای هر عمق یک نمونه مرکب تهیه شد. در آزمایشگاه برخی ویژگی‌های نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

**جدول ۱- آمار هواشناسی در طی مدت اجرای آزمایش (سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵)**
**Table 1- Meorological statistics during the experiment**

| ماه Month | میانگین دما Temperature average (°C) | حداقل دما Temperature min. (°C) | حداکثر دما Temperature max. (°C) | بارندگی Rainfall (mm) | میانگین سرعت باد Average wind speed ($km.h^{-1}$) | رطوبت نسبی Relative humidity (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| November | 19.4 | 11.7 | 27.7 | 0.0 | 7.0 | 37.4 |
| December | 14.2 | 8.5 | 19.8 | 41.14 | 8.5 | 59.1 |
| January | 13.7 | 8.0 | 20.0 | 1.27 | 7.9 | 53.9 |
| February | 13.5 | 6.5 | 20.4 | 10.15 | 7.5 | 44.8 |
| March | 20.4 | 13.7 | 26.9 | 42.42 | 8.3 | 46.4 |

جدول ۲- ویژگی‌های نمونه خاک محل اجرای آزمایش

Table 2- Physical and chemical soil characteristics of soil in research station

| عمق خاک Soil depth (Cm) | هدایت الکتریکی EC ( $dS.m^{-1}$) | pH | بافت خاک Soil texture | مواد آلی Organic matter (%) | نیتروژن N (%) | فسفر P ($mg.Kg^{-1}$) | پتاسیم K ($mg.Kg^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0-30 | 7.7 | 7.7 | SiCL رسی سیلتی | 1.0 | 0.03 | 16.9 | 130 |
| 30-60 | 9.4 | 7.6 | SiCL رسی سیلتی | 0.8 | 0.02 | 15.1 | 144 |

با توجه به نتایج خاک محل آزمایش شور و سدیمی محسوب شد. قبـل از کاشـت، بـه‌منظـور تحریـک جوانـه‌زنـی و مهـار مطلـوب علف‌های‌هرز و نیز تامین رطوبت خـاک در محـدوده ظرفیـت زراعـی برای انجام عملیات تهیه زمین، آبیاری اولیه صـورت گرفـت. پـس از عملیات شخم با گاوآهن برگدان‌دار، جهت خردکردن کامل کلوخه‌ها و تسطیح زمین، دو مرحله دیسک در جهت عمود بر هم انجام شد. پس از این مرحله با توجه به آزمون خاک کود فسفر به میزان ۶۰ کیلوگرم فسفر خالص از منبع سوپر فسفات تریپل، به‌طور یکنواخـت در سـطح مزرعه توزیع شد. کود نیتروژن با توجه به آزمون خاک به‌میـزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به فرم اوره (۵۰ درصد در زمان کاشت و ۵۰ درصد به‌صورت سرک در مرحله ساقه‌روی) به‌کار رفت (۱۴). نقشه آزمـایش با استفاده از گچ ساختمانی بر روی زمـین مشـخص وتوسـط مرزبنـد کرت‌های مورد نظر ایجاد گردید و نهرها با اسـتفاده از نهـرکن ایجـاد شد. جوی و پشته‌ها به‌صورت دستی با بیل ایجاد و جهـت جغرافیـایی ردیف‌های کاشت با استفاده از قطب‌نما مشخص گردید. قبل از کاشت درصد جوانه‌زنی و درصد خلوص جهـت دسـتیابی بـه تـراکم مطلـوب برای هر خط کاشت تعیین شد. با توجه به ریز بودن بذور و بـه‌منظـور اطمینان از دسـتیابی بـه تـراکم مطلـوب ۳۳۳ هـزار بوتـه در هکتـار (۱۰×۳۰ سانتی‌متر) (۱۱)، ۱/۵ برابر میزان محاسبه شده برای هر خط توزین گردید. جهت کاشت، بذور را با مقداری شـن و ماسـه مخلـوط کرده و با کمک بیلچه در وسط جوی میان دو پشته شـیارهایی بسـیار سطحی ایجاد گردید و عمل کاشت انجام شد. ابعـاد هـر کـرت دو در سه متر بود و در هر واحد آزمایشی ۶ خط کاشت بابونه در نظر گرفتـه شد. فاصله بین بلوک‌ها دو متر و فاصله بـین ردیـف‌هـا (پشـته‌هـا) از یکدیگر ۳۰ سانتی‌متر بود. اولین آبیاری در تاریخ چهارم آذر ماه انجـام گردید که به‌عنوان تاریخ کاشت در نظر گرفته شد. بعد از سـبز شـدن، بوته‌های اضافی تنک گردید. در سطح مزرعه آزمایشی آفتی مشـاهده نشد همچنین مهار علف‌های هرز به‌طور مداوم به‌صورت وجین دستی انجام شد. عملیات برداشت از تـاریخ ۱۴ فـروردین مـاه هنگـامی کـه بیش‌تر گلبرگ‌ها نسبت بـه سـطح گـل بـه‌طـور کامـل افقـی بودنـد به‌صورت مداوم انجام شد. در ابتدا از دو خط میانی هر کرت با در نظر گرفتن نیم متر حاشیه از هر طرف پنج بوته بـه‌طـور تصـادفی جهـت اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکرد انتخاب شدند و پس از حذف حاشیه‌ها سطح باقیمانده (حدود یـک متـر مربـع) بـرای تعیین عملکرد انتخاب شدند. گل‌ها بلافاصله پس از برداشت در سـایه در دمای ۳۵ تا ۳۸ درجه سلسـیوس و بـه مـدت ۷۲ سـاعت خشـک شدند. برای این‌که اثر میکروکلیما در خصوص حفـظ رطوبـت در ایـن آزمایش بهتر مشخص شود آبیاری به‌صورت کم آبیاری انجام گردید و دفعات آبیاری به سه مرحله‌ی زمان کاشـت (چهـارم آذر)، میانـه دوره زندگی گیاه (۱۴ بهمن) و آغاز گل‌دهی (ششم فروردین) محدود شـد. برای ارتفاع گیاه پنج بوته به‌صورت تصادفی انتخـاب و بـا خـط‌کـش اندازه‌گیری گردید. بـرای محاسـبه قطـر سـاقه اصـلی و قطـر طبـق به‌صورت تصادفی پنج نمونه انتخاب و با استفاده از کـولیس دیجیتـال اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها در نظر گرفته شد. تعداد ساقه‌های فرعـی پنج بوته که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند، شمارش و میانگین آن‌ها به‌عنوان تعداد ساقه در بوته به ثبت شد. برای اندازه‌گیری تعـداد گل‌آذین در بوته از خطوط وسط هر کرت ده بوته به‌صـورت تصـادفی انتخاب و با نخ رنگی علامت‌گذاری شد. سپس طی سه مرحله

برداشت شمارش گل‌آذیـن بـه‌صـورت تجمعـی انجـام گرفـت و میانگین ده بوته ثبت گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشـک گـل‌آذیـن تعداد ده گل‌آذین به طور تصادفی جدا و سـپس بـه‌مـدت ۷۲ سـاعت آن‌ها را در سایه خشـک کـرده و وزن خشـک آن‌هـا یادداشـت شـد. ضریب استهلاک نوری در مرحله گل‌دهی بـا اسـتفاده از PAR سـنج (تشعشع فعال فتوسـنتزی) (PAR/LAI Ceptometer) مـدل Accu PAR E-240- LP-80 Ceptometer انجام پذیرفت. در هـر کـرت، به مساحت دو مترمربع، نورسنج سه بار در پایین سایه‌انداز و به‌صورت عمود بر خطوط کشت قرار داده شد و میانگین سه بار قرائت به‌عنـوان مقدار نور عبور کرده در پایین سایه‌انداز مد نظر قرار گرفت. نور ورودی به کانوپی در ارتفاع ۱/۵ متری بالای سایه‌انداز نیز اندازه‌گیری شد. بـا توجه به رابطه (۱) و داشتن مقدار شاخص سـطح بـرگ و مقـدار نـور اندازه‌گیری شده در بالا و پایین سایه‌انداز، ضریب استهلاک نـوری بـا رگرسیون‌گیری از لگاریتم طبیعی مقـدار نـور عبـور کـرده (Ii/ I0) در مقابل شاخص سطح برگ به‌دست آمد.

$$Ii/ I0= e-k.LAI \qquad (۱)$$

**شکل ۱- تصاویر برخی از کرت‌های آزمایشی و جهت‌های جغرافیایی ردیف‌های کاشت**

**Figure 1- Images of some of plots and the geographical orientations of sowing rows**

در رابطه یک، Ii نور خورشید در قسمت پایین سایه انداز (میکرومول بر مترمربع در ثانیه)، I0 نور خورشید در قسمت بالای سایه انداز (میکرومول بر مترمربع در ثانیه)، e پایه لگاریتم طبیعی برابر ۲/۷۱۸۲۸، k ضریب استهلاک نوری و LAI شاخص سطح برگ است. برای اندازه‌گیری اسانس یک نمونه ۲۰ گرمی از گل‌های سایه خشک (با احتساب میزان رطوبت موجود در گل‌آذین‌ها)، همراه با ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون دستگاه کلونجر قرار داده و به مدت چهار ساعت حرارت داده شدند. سپس اسانس آبی رنگ به‌دست آمده با آب‌گیری کامل آن توسط سولفات سدیم را در داخل ظروف کوچک که از قبل با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ وزن شدند قرار داده و وزن اسانس درصد گرم گل خشک و عملکرد اسانس (درصد اسانس× ماده خشک در هکتار) محاسبه شد (۶). جهت اندازه‌گیری درصد کامازون، بی‌فارنسن و بیسابولول اکساید از هر ترکیب تیماری در هر تکرار نمونه‌برداری گل‌آذین صورت گرفت و نمونه‌های مربوط به هر ترکیب تیماری در هر سه تکرار با یکدیگر به‌خوبی مخلوط گردید و بعد از اسانس‌گیری، جهت شناسایی و تجزیه ترکیب‌های اسانس از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) مدل Agilent (MS 5875 C GC7890) و مقایسه آن با ترکیب‌های استاندارد استفاده گردید (۳). ستون HP-5MS به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، مد یونیزاسیون EI و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه حرارتی آون ۵ دقیقه در ۵۰ درجه‌ی سلسیوس، سپس ۵۰ تا ۲۴۰ درجه سلسیوس با شیب ۳ درجه سلسیوس بر دقیقه و ۲۴۰ تا ۳۰۰ درجه سلسیوس با شیب ۱۵ درجه سلسیوس بود. دمای محل تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. گاز مورد استفاده هلیوم و سرعت حرکت ۰/۸ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. جهت شناسایی و تایید طیف‌ها، بر اساس محاسبه شاخص بازداری (RI) آن‌ها با استفاده از طیف‌های جرمی، از مخلوط آلکان‌های نرمال استفاده شد (۱۴) و از شاخص‌های موجود در کتب مرجع (۵) و اطلاعات موجود در کتابخانه‌ی Weilly استفاده گردید. درصد هر یک از ترکیبات نیز با توجه به سطح زیر منحنی طیف کروماتوگرام به‌دست آمده از دستگاه GC/MS محاسبه شد. تجزیه آماری با نرم‌افزار SAS 9.3 و مقایسه میانگین بوسیله آزمون LSD انجام شد.

## نتایج و بحث

ارتفاع گیاه: اثرات اصلی و برهم‌کنش تیمارهای آزمایشی بر ارتفاع گیاه معنی‌دار گردید (جدول ۳). ارتفاع گیاه می‌تواند تحت تأثیر شرایط میکروکلیمای ایجاد شده در کف جوی (میان دو پشته) در ردیف‌های کاشت با جهت‌های مختلف به‌ویژه از نظر شرایط رطوبتی و شوری خاک بالا (هدایت الکتریکی ۷/۷ دسی‌زیمنس بر متر) (جدول ۲) قرار بگیرد. برای مثال در پژوهشی بر روی ذرت، ارتفاع بوته و کارایی مصرف آب، در روش کاشت بذر در جوی نسبت به کاشت بذر بر روی پشته به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۹). هم‌چنین در آزمایشی بالاترین و کم‌ترین هدایت الکتریکی به‌ترتیب در نوک پشته و کف جوی به‌دست آمد (۷). در پژوهشی با افزایش سطوح شوری از ارتفاع گیاه بابونه آلمانی کاسته شد (۸). ارتفاع بوته نیز تحت تأثیر ژنوتیپ گیاه قرار می‌گیرد. در بررسی که بر روی ۲۰ توده ایرانی و پنج واریته اروپایی بابونه آلمانی صورت پذیرفت ارتفاع گیاه از ۵۴/۲ تا ۱۵۷/۴ سانتی‌متر متغییر بود (۱۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل توده و جهت کشت بر روی ارتفاع بوته (جدول ۵) نشان داد که توده‌های اهواز و اصفهان در جهت کشت شمال غربی- جنوب بالاترین و توده شیراز در شرایط کشت مسطح (شاهد) کم‌ترین ارتفاع بوته را داشتند. ارقام ممکن است واکنش‌های متفاوتی نسبت به جهت خطوط کشت نشان دهند (۱۸). در یک نگاه کلی، در هر سه توده، کم‌ترین ارتفاع در کشت مسطح و جهت شرق-غرب به‌دست آمد. پیش از اجرای آزمایش بر اساس فرضیات انتظار می‌رفت جهت شمال-جنوب

بالاترین ارتفاع را داشته باشد ولی جهت شمال غربی- جنوب شرقی بیش‌ترین ارتفاع را نشان داد. شاید علت این اتفاق آن باشد که در زمان رشد رویشی گیاه در پاییز و زمستان، در نیمکره شمالی محور حرکت وضعی کره زمین (محور گردش کره زمین به دور خود) نسبت به خورشید بیش‌ترین انحراف (۲۳/۴ درجه) را دارد و نور خورشید مایل‌تر می‌تابد لذا در جهت شمال غربی- جنوب شرقی شرایط بهتری نسبت سایر جهات برای دست‌یابی به ارتفاع بیش‌تر فراهم گردیده باشد. به‌تدریج با نزدیک شدن به اول بهار (اعتدال بهاری) از این زاویه کاسته شده و بعد از اعتدال بهاری (شروع فاز زایشی در گیاه) جهت محور گردش زمین تمایل بیش‌تر به سمت خورشید پیدا می‌کند و نور عمودی‌تر می‌تابد. شدت و کیفیت نور در محیط می‌تواند بر کمیت و نسبت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی تأثیر گذاشته و باعث بروز تغییرات مورفولوژیک مانند تغییر در ارتفاع شوند (۲۸). در آزمایشی ارتفاع گیاه ماش در خطوط کشت شمال- جنوب بیشتر از جهت شرقی- غربی بود (۲۶). شاید جهت جغرافیایی کاشت به تنهایی تأثیر زیادی بر ارتفاع و سایر صفات مورفولوژیک نداشته باشد بلکه عوامل دیگری وجود دارند که در کنار آن می‌توانند اثر بخشی آن را بیش‌تر کنند. برای مثال در جهت‌های کشت شمال- جنوب، شمال غربی- جنوب شرقی و نیز شمال شرقی- جنوبی غربی امکان سایه اندازی پشته‌ها در صبح و بعد از بر کف جوی (محل کاشت بذر) نسبت به جهت کشت شرقی- غربی (که هم مسیر حرکت خورشید در آسمان است) بیش‌تر است و حفظ رطوبت در شرایط کم‌آبیاری بیش‌تر فراهم می‌شود. در آزمایشی در کشت مسطح برنج جهت جغرافیایی خطوط کاشت (شمال-جنوب و شرق-غرب) اثر معنی‌داری بر ارتفاع گیاه نداشت (۱۸) که شاید به‌واسطه نبودن عوامل تکمیلی و تشدید کننده اثر جهت خطوط کاشت مانند جوی و پشته‌ها باشد.

قطر ساقه اصلی: قطر ساقه اصلی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر جهت کشت قرار گرفت (جدول ۳). بیش‌ترین قطر ساقه اصلی در جهت کشت شمال غربی- جنوب شرقی به‌دست آمد در حالی که جهت‌های کشت شرقی- غربی و کشت مسطح با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر جهت‌های کشت کم‌ترین قطر ساقه را دارا بودند (جدول ۴). هر چه میزان نور در کانوپی کم‌تر باشد رقابت برای دریافت نور افزایش و رشد طولی بوته بیش‌تر و از قطر ساقه اصلی کاسته می‌گردد، بنابراین احتمال دارد که در جهت‌های کاشتی که قطر ساقه بیش‌تری در آن‌ها به‌دست آمد میزان نور بیش‌تر و رقابت برای نور کمتر بوده باشد. در آزمایشی بر روی ماش، میزان تشعشع فعال فتوسنتزی (PAR) در خطوط کشت شمال- جنوب بیش‌تر از جهت شرقی- غربی بود (۲۶).

**جدول ۳- تجزیه واریانس صفات گیاه بابونه آلمانی**

**Table 3- ANOVA for traits of German chamomile plant**

| منبع تغییر Source of Variation | درجه آزادی df | ارتفاع گیاه Plant height | قطر ساقه اصلی Diameter of main stem | ضریب استهلاک نوری Optical depreciation coefficient | قطر طبق Capitulum diameter | وزن خشک ۱۰ گل‌آذین Dry weight of 10 inflorescences | تعداد گل در بوته Number of flowers per plant | تعداد ساقه در بوته Number of stems per plant | عملکرد گل‌آذین خشک Dried inflorescence yield | درصد اسانس Essential oil percentage | عملکرد اسانس Essential oil yield | عملکرد بیولوژیک Biological yield |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | میانگین مربعات Mean of squares | | | | | | | | | | |
| بلوک Block | 2 | 6.31* | 0.22ns | 0.011 ns | 0.074 ns | 0.0080** | 17.8* | 1.17ns | 44.3 ns | 0.00006ns | 0.54ns | 550ns |
| توده Landrace (L) | 2 | 29.3** | 0.25 ns | 0.012 ns | 0.056 ns | 0.0008 ns | 187** | 0.86ns | 406** | 0.008ns | 1.21ns | 973ns |
| جهت کاشت Geographical orientations (GO) | 4 | 57.9** | 1.63** | 0.024* | 0.106 ns | 0.0012 ns | 383** | 27.4** | 2214** | 0.17** | 28.3** | 29605** |
| توده × جهت کاشت L × GO | 8 | 29.2** | 0.19 ns | 0.005 ns | 0.116 ns | 0.0006 ns | 87.0** | 2.16** | 350** | 0.083** | 8.67** | 4589** |
| خطا Error | 28 | 1.62 | 0.27 | 0.007 | 0.077 | 0.0011 | 4.88 | 0.70 | 18.5 | 4.88 | 1.16 | 34.2 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | - | 2.2 | 10.3 | 15.0 | 3.5 | 11.2 | 3.3 | 6.5 | 4.2 | 13.5 | 11.2 | 5.4 |

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

ns, * and ** Non-significant and significant at 5 and 1 % of probability levels, respectively.

جدول ٤- اثر جهت‌های مختلف کشت بر صفات بابونه آلمانی

Table 4-The effect of geographical orientations on German chamomile traits

| جهت کاشت Geographical orientations | قطر ساقه اصلی Diameter of main stem (mm) | ضریب استهلاک نوری Optical depreciation coefficient | وزن خشک ۱۰ گل‌آذین Dry weight of 10 inflorescences (g) | قطر طبق Capitule diameter (mm) |
|---|---|---|---|---|
| شمال- جنوب North- South | 5.18[ab] | 0.63[a] | 0.30[a] | 8.80[a] |
| شرق- غرب East-West | 5.04[b] | 0.61[a] | 0.32[a] | 8.09[a] |
| شمال شرقی- جنوب غربی North East -South West | 5.11[ab] | 0.61[a] | 0.28[a] | 7.87[a] |
| شمال غربی- جنوب شرقی North West -South East | 5.56[a] | 0.57[ab] | 0.30[a] | 7.87[a] |
| مسطح Flat (nonlinear sowing) | 4.37[c] | 0.50[b] | 0.29[a] | 7.92[a] |

در هر ستون و برای هر تیمار میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.

In each column means followed by at least one same letter are not significantly different at 5% of probability level based on LSD test.

ضریب استهلاک نوری: اثر جهت کاشت بر ضریب استهلاک نوری معنی‌دار شد (جدول ۳). کم‌ترین ضریب استهلاک نوری در کشت مسطح مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری با سایر جهت‌های کشت اختلاف معنی‌داری داشت در حالی‌که میان چهار جهت کشت دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۴). افزایش تولید برگ و ساقه از میزان نفوذ نور به درون کانوپی می‌کاهد و باعث افزایش ضریب استهلاک نوری می‌گردد. لذا احتمال دارد که جهت‌های کشت، شاخ و برگ بیش‌تری نسبت به کشت مسطح تولید نموده و همین امر باعث افزایش ضریب استهلاک نوری نسبت به کشت مسطح باشد. در تایید این مطلب در مقایسه میانگین اثر متقابل جهت کشت × توده‌های بابونه (جدول ۵) مشاهده می‌شود که کم‌ترین تعداد ساقه در بوته در هر سه توده‌ی بابونه مربوط به کشت مسطح است. در دو توده اصفهان و شیراز بیش‌ترین تعداد ساقه در بوته در جهت شمال غربی- جنوب شرقی و در توده اهواز در جهت شمال- جنوب مشاهده شد که شاید به ویژگی‌های ژنوتیپی این توده‌ها مربوط باشد.

قطر طبق و وزن خشک ۱۰ گل‌آذین: قطر طبق و وزن خشک ۱۰ گل‌آذین تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار نگرفت (جدول ۳)، به‌نظر می‌رسد این صفات نیز به شدت تحت کنترل ژنتیک گیاه قرار دارد. در آزمایشی تفاوت معنی‌داری در قطر طبق و وزن خشک گل‌آذین در میان ۲۵ توده و رقم بابونه آلمانی ایرانی و اروپایی مشاهده نشد (۱۳).

تعداد گل در بوته: اثرات اصلی و متقابل صفت تعداد گل در بوته معنی‌دار شد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل توده و جهت‌های کاشت (جدول ۵) نشان داد بیش‌ترین تعداد گل به بوته در توده اصفهان و در جهت‌های شمال شرقی- جنوب غربی و شمال جنوب به‌دست آمد در حالی‌که کم‌ترین تعداد گل در بوته در توده شیراز و در کشت مسطح مشاهده گردید. در روندی کلی مشاهده گردید که در هر سه توده کاشت مسطح و جهت کاشت شرق- غرب کم‌ترین تعداد گل در بوته را دارا بود در حالی‌که جهت‌های کشت عمود و زاویه‌دار با عرض جغرافیایی عملکرد بالاتری داشتند. افزایش تعداد واحدهای زایشی (گل‌آذین‌ها) مستلزم آن است که گیاه از قبل رشد رویشی مطلوبی داشته باشد. احتمال دارد کشت گیاه در جهت‌های عمود و زاویه‌دار با عرض جغرافیایی میکروکلیمای مناسب‌تری (برای مثال از لحاظ کمیت و کیفیت نور دریافتی، دسترسی به رطوبت) نسبت به کاشت مسطح جهت کشت مشرق- غرب در دوره رشد رویشی و زایشی ایجاد کرده باشد. علاوه بر کمیت و کیفیت نور، کشت بذر در جوی نسبت به کشت مسطح گیاه کم‌تر با تنش شوری مواجه می‌گردد.

عملکرد گل خشک: اثرات اصلی و متقابل بر عملکرد گل خشک اثر معنی‌دار داشت (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۵) نشان داد بالاترین عملکرد گل خشک در توده اصفهان در جهت‌های شمال- جنوب، شمال شرقی- جنوب غربی و شمال غربی- جنوب شرقی وجود دارد و کم‌ترین عملکرد گل خشک در توده شیراز و در کشت مسطح به‌دست آمد به‌طوری‌که میان حداکثر و حداقل عملکرد گل خشک به‌دست آمده، ۹۳ درصد اختلاف مشاهده شد. هم‌چنین در توده اصفهان میان حداکثر عملکرد گل خشک به‌دست آمده در جهت شمال- جنوب و حداقل عملکرد در کشت مسطح، ۶۸ درصد اختلاف مشاهده گردید. به‌عبارت دیگر فقط با کشت در درون جوی و در جهت شمال- جنوب می‌توان ۶۸ درصد افزایش درآمد داشت. عملکرد گل خشک تا حدود زیادی از صفت تعداد گل در بوته تأثیر پذیرفته است به‌طوری‌که کم و بیش همان ترکیبات تیماری که بالاترین و کم‌ترین تعداد گل در بوته را داشتند بالاترین و کم‌ترین عملکرد گل خشک را نیز دارا بودند (جدول ۵).

جدول ۵- اثر متقابل توده × جهت‌های مختلف کشت بر برخی از صفات بابونه آلمانی

**Table 5- Interaction effect between populations ×geographical orientations on German chamomile traits**

| توده<br>Population | جهت کاشت<br>Geographical Orientations | ارتفاع گیاه<br>Plant height (cm) | تعداد ساقه در بوته<br>Number of stemes per plant | تعداد گل در بوته<br>Number of flowers per plant | عملکرد بیولوژیک<br>Biological yield ($g.m^{-2}$) | عملکرد گل‌آذین خشک<br>Dried inflorescence Yield ($g.m^{-2}$) | درصد اسانس<br>Essential oil percentage | عملکرد اسانس<br>Essential oil yield ($kg.ha^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| اهواز<br>Ahvaz | شمال- جنوب<br>North- South | 57.6$^{de}$ | 14.4$^{abc}$ | 65.2$^{c}$ | 395$^{abc}$ | 108$^{cd}$ | 0.39$^{h}$ | 4.31$^{fgh}$ |
| | شرق- غرب<br>East-West | 61.0$^{bc}$ | 12.4$^{de}$ | 61.8$^{cd}$ | 306$^{f}$ | 88.4$^{g}$ | 0.54$^{efg}$ | 4.82$^{fgh}$ |
| | شمال شرقی- جنوب غربی<br>North East -South West | 57.8$^{def}$ | 12.2$^{ef}$ | 60.2$^{d}$ | 320$^{ef}$ | 95.4$^{fg}$ | 0.69$^{cd}$ | 6.65$^{de}$ |
| | شمال غربی- جنوب شرقی<br>North West -South East | 63.3$^{a}$ | 13.0$^{cde}$ | 74.1$^{b}$ | 378$^{cd}$ | 110$^{c}$ | 0.84$^{b}$ | 9.38$^{a}$ |
| | مسطح<br>Flat (nonlinear sowing) | 56.0$^{fgh}$ | 10.3$^{g}$ | 61.6$^{cd}$ | 302$^{f}$ | 88.9$^{g}$ | 0.57$^{def}$ | 5.13$^{efg}$ |
| اصفهان<br>Isfahan | شمال- جنوب<br>North- South | 57.1$^{efg}$ | 13.7$^{bcd}$ | 78.5$^{a}$ | 377$^{cd}$ | 126$^{a}$ | 0.45$^{fgh}$ | 5.67$^{def}$ |
| | شرق- غرب<br>East-West | 53.9$^{h}$ | 12.2$^{ef}$ | 63.7$^{b}$ | 312$^{f}$ | 95.5$^{fg}$ | 1.06$^{a}$ | 10.1$^{a}$ |
| | شمال شرقی- جنوب غربی<br>North East -South West | 59.7$^{de}$ | 12.8$^{de}$ | 75.4$^{ab}$ | 312$^{f}$ | 121$^{ab}$ | 0.49$^{e-h}$ | 5.98$^{def}$ |
| | شمال غربی- جنوب شرقی<br>North West -South East | 62.5$^{ab}$ | 14.5$^{ab}$ | 74.4$^{b}$ | 417$^{a}$ | 120$^{ab}$ | 0.58$^{def}$ | 7.00$^{bcd}$ |
| | مسطح<br>Flat (nonlinear sowing) | 58.4$^{de}$ | 10.8$^{fg}$ | 56.4$^{e}$ | 243$^{g}$ | 74.9$^{h}$ | 0.42$^{gh}$ | 3.14$^{h}$ |
| شیراز<br>Shiraz | شمال- جنوب<br>North- South | 60.6$^{bc}$ | 14.4$^{ab}$ | 72.0$^{b}$ | 380$^{bc}$ | 115$^{bc}$ | 0.60$^{de}$ | 6.90$^{cde}$ |
| | شرق- غرب<br>East-West | 57.6$^{de}$ | 12.5$^{de}$ | 64.8$^{c}$ | 371$^{cd}$ | 110$^{cd}$ | 0.77$^{bc}$ | 8.53$^{abc}$ |
| | شمال شرقی- جنوب غربی<br>North East -South West | 55.6$^{gh}$ | 13.6$^{b-e}$ | 63.6$^{cd}$ | 348$^{de}$ | 100$^{ef}$ | 0.54$^{efg}$ | 5.42$^{def}$ |
| | شمال غربی- جنوب شرقی<br>North West -South East | 59.0$^{cde}$ | 15.2$^{a}$ | 64.6$^{c}$ | 378$^{cd}$ | 103$^{de}$ | 0.77$^{bc}$ | 8.70$^{ab}$ |
| | مسطح<br>Flat (nonlinear sowing) | 49.1$^{i}$ | 8.7$^{h}$ | 49.5$^{f}$ | 204$^{h}$ | 65.4$^{i}$ | 0.54$^{efg}$ | 3.57$^{gh}$ |

در هر ستون و برای هر تیمار میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

In each column means followed by at least one letter not significantly different.

عملکرد بیولوژیک: اثر متقابل توده و جهت کاشت بر عملکرد بیولوژیک معنی‌دار شد (جدول ۳). بالاترین عملکرد بیولوژیک در توده اصفهان در جهت شمال غربی- جنوب شرقی و توده اهواز در جهت کاشت شمال- جنوب به‌دست آمد. کم‌ترین عملکرد بیولوژیک نیز در توده شیراز و در کشت مسطح حاصل شد که حدود ۱۰۴ درصد با بالاترین عملکرد به‌دست آمده اختلاف داشت. برآیند ویژگی‌های ژنتیک توده‌ها و نیز میکروکلیمای ایجاد شده به‌واسطه جهت جغرافیایی خطوط کاشت می‌تواند بر عملکرد بیولوژیک اثر بگذارد. در

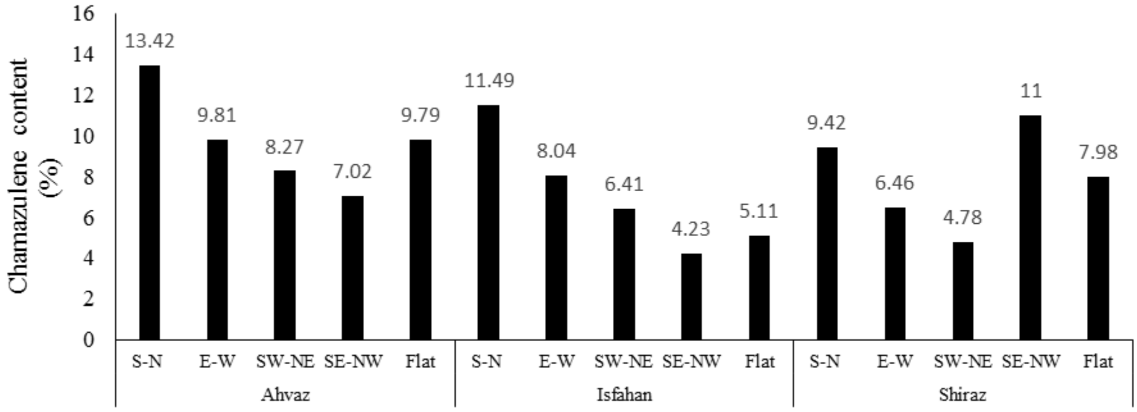
آزمایشی تعداد ساقه و تعداد گل در بوته همبستگی معنی‌دار مثبت با عملکرد بیولوژیک در گیاه بابونه داشت (۵). در آزمایشی بر روی گندم در طی دو سال و در سه تاریخ کاشت عملکرد بیولوژیک (عملکرد دانه + کاه گندم) در جهت کاشت شمال - جنوب بیشتر از جهت شرق- غرب بود و جهت شمال- جنوب تشعشع فعال فتوسنتزی بیش‌تری دریافت نمود (۹).

درصد اسانس: برهم‌کنش جهت کاشت و توده بر صفت درصد اسانس اثر معنی‌دار داشت (جدول ۳). بر خلاف اغلب صفات مورد بررسی که در آن‌ها خطوط عمود بر عرض جغرافیایی بیش‌ترین مقادیر را داشتند در صفت درصد اسانس در جهت کاشت شرق- غرب در توده اصفهان بیش‌ترین درصد اسانس را دارا بود. از آنجایی در بسیاری از موارد مقدار متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر تنش افزایش می‌یابد امکان دارد در این جهت کاشت گیاه با تنش بیش‌تری به‌ویژه از لحاظ رطوبتی مواجه گردیده و درصد اسانس افزایش یافته باشد. کم‌ترین درصد اسانس در توده اهواز و در جهت شمال- جنوب حاصل شد (جدول ۵). کاشت یک توده در منطقه‌ی جغرافیایی جدید با آب و هوای متفاوت می‌تواند بر کمیت و کیفیت محصول آن اثر بگذارد. در آزمایشی در اصفهان، ۲۳ توده بابونه از نقاط مختلف ایران و اروپا و از جمله پنج توده اصفهان مورد ارزیابی قرار گرفتند که درصد اسانس توده‌های اصفهانی از ۰/۴۴ تا ۰/۴۹ درصد متغییر بود (۴) در حالی‌که درصد اسانس توده‌ی اصفهان در اهواز از ۰/۴۲ تا ۱/۰۶ درصد گزارش شده بود (جدول ۵) هرچند این افزایش ممکن است بیش‌تر بر اثر اعمال تیمارهای آزمایش باشد. در صربستان در آزمایشی بر روی ارقام تتراپلوئید بابونه آلمانی درصد اسانس ۰/۴۸-۰/۴۳ درصد گزارش شد (۳). در آزمایشی در کرج بالاترین درصد اسانس از توده‌های بابونه استان خوزستان (۰/۸۲ تا ۰/۸۶ درصد) به دست آمد (۱۶).

عملکرد اسانس: اثرمتقابل توده و جهت کاشت در صفت عملکرد اسانس معنی‌دار شد (جدول ۳). بالاترین عملکرد اسانس توده اصفهان در جهت شرق- غرب و در توده‌های اهواز و شیراز در جهت شمال غربی- جنوب شرقی مشاهده شد (جدول ۵). عملکرد اسانس برآیند و تلفیقی از صفات درصد اسانس و عملکرد گل خشک است. از سوی دیگر در بسیاری از موارد میان کمیت و کیفیت محصولات زراعی، باغی و گیاهان دارویی رابطه عکس وجود دارد بنابراین نمی‌توان انتظار داشت ترکیبات تیماری که دارای بالاترین درصد اسانس و عملکرد گل خشک هستند لزوما دارای بالاترین عملکرد اسانس نیز باشند. در آزمایشی با افزایش سطوح نیتروژن هر چند عملکرد دانه افزایش یافت ولی درصد سیلیمارین در بذر گیاه دارویی خارمریم کاهش یافت (۲۱). کم‌ترین عملکرد اسانس در توده‌های اصفهان و شیراز در کشت مسطح و در توده‌ی اهواز در جهت‌های شمال جنوب و شرق- غرب به‌دست آمد (جدول ۵).

کامازولن: بالاترین درصد کامازولن اسانس به‌ترتیب در توده اهواز و اصفهان در جهت شمال- جنوب مشاهده شد (شکل ۲). در حالی‌که در توده شیراز بالاترین درصد کامازولن اسانس در جهت جنوب شرقی- شمال غربی حاصل گردید. در توده‌های توده اهواز و اصفهان کم‌ترین درصد کامازولن اسانس در همین جهت جنوب شرقی- شمال غربی به‌دست آمد که نشان دهنده واکنش متفاوت توده‌ها به جهت‌های کاشت است. در پژوهشی نزدیک به محل اجرای این آزمایش درصد کامازولن در محدوه ۱۳/۶ تا ۱۴/۰ درصد گزارش شد (۲) در حالی‌که در این آزمایش دامنه تغییرات کامازولن بسیار بیشتر بود (از ۴/۲ تا ۱۳/۴ درصد) که این امر شاید به‌علت شوری خاک، اثر سال و تفاوت توده‌های بابونه باشد. در آزمایشی در حومه تهران درصد کامازولن بابونه از ۷/۹ تا ۱۰/۰ درصد متغیر بود (۲۰). در تحقیقی دیگر درصد کامازولن سه اکوتیپ ایتالیایی، تهرانی و زابلی بابونه آلمانی به ترتیب ۲/۱۱، ۱/۸۱ و ۱/۴۱ درصد گزارش شد (۱۲). تفاوت‌های بالایی که در محتوای کامازولن در گزارش‌های مختلف مشاهده می‌شود نشان دهنده‌ی تأثیرپذیری بالای این جزء از اسانس از عوامل زیستی و غیرزیستی است. در منطق سوکا (Coka) صربستان، کامازولن بابونه‌های آلمانی ۷/۱۳-۵/۱ درصد گزارش شد (۳). در آزمایشی شش توده بومی ایران و دو رقم تجاری آلمانی و مجارستانی و بابونه آلمانی در شهرستان کرج بررسی گردید. بالاترین محتوای کامازولن در رقم مجارستانی (۱۴/۳ درصد) مشاهده شده در حالی‌که بالاترین درصد کامازولن در توده‌های ایرانی در توده اندیمشک (۷/۹ درصد) به دست آمد (۱۶).

بی-فارنسن: بالاترین درصد بی-فارنسن در توده شیراز و در جهت جنوب غربی- شمال شرقی مشاهده شد (شکل ۳). در توده اهواز نیز بالاترین درصد بی-فارنسن در جهت جنوب غربی- شمال شرقی در حالی‌که در توده اصفهان بالاترین درصد در کشت مسطح به‌دست آمد. کم‌ترین درصد بی-فارنسن در توده‌های اهواز و اصفهان در جهت شرق- غرب و در توده شیراز در جهت جنوب شرقی- شمال غربی مشاهده شد. در آزمایشی در حاشیه دریای مازندران و در ارتفاع چهار متری زیر سطح دریا درصد بی-فارنسن در اکوتیپ‌های ایتالیایی، تهرانی و زابلی بابونه آلمانی به ترتیب۱/۸۰، ۱/۵۶ و ۱/۰۲ درصد گزارش گردید (۱۲) که کم‌تر از نتایج به‌دست آمده در این آزمایش بود. احتمال دارد این تفاوت به‌دلیل شرایط اقلیمی متفاوت شمال کشور مانند روزهای ابرناکی و رطوبت نسبی بالاتر هوا باشد. در صربستان بی-فارنسن بابونه ۳۹-۱۷/۸ درصد گزارش شد (۳). در پژوهشی در کرج، بالاترین محتوای بی-فارنسن در توده رامهرمز بابونه (۶/۳ درصد) مشاهده گردید (۱۶).




توده‌ها و جهت‌های جغرافیایی ردیف کاشت

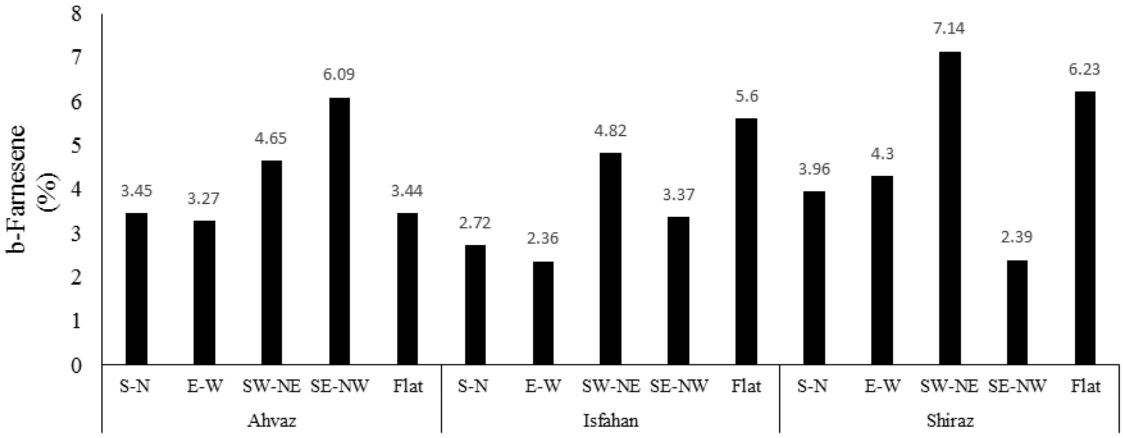
S-N (شمال- جنوب)، E-W (شرق- غرب)، Flat (کشت مسطح)، SW-NE (جنوب غربی- شمال شرقی)، SE-NW (جنوب شرقی- شمال غربی)

Populations and the geographical orientations of sowing rows

S-N= (South- North), E-W= (East-West), Flat (nonlinear sowing), SW-NE (South West- North East), SE-NW (South East- North West)

**شکل ۲- اثر متقابل توده×جهت‌های مختلف کشت بر محتوی کامازولن (٪) در اسانس بابونه آلمانی**

**Figure 2- Interaction effect of landrace×geografical orientation on Chamazulene content (%) in essential oil of German chamomile (LSD, *p≤0.05*)**




توده‌ها و جهت‌های جغرافیایی ردیف کاشت

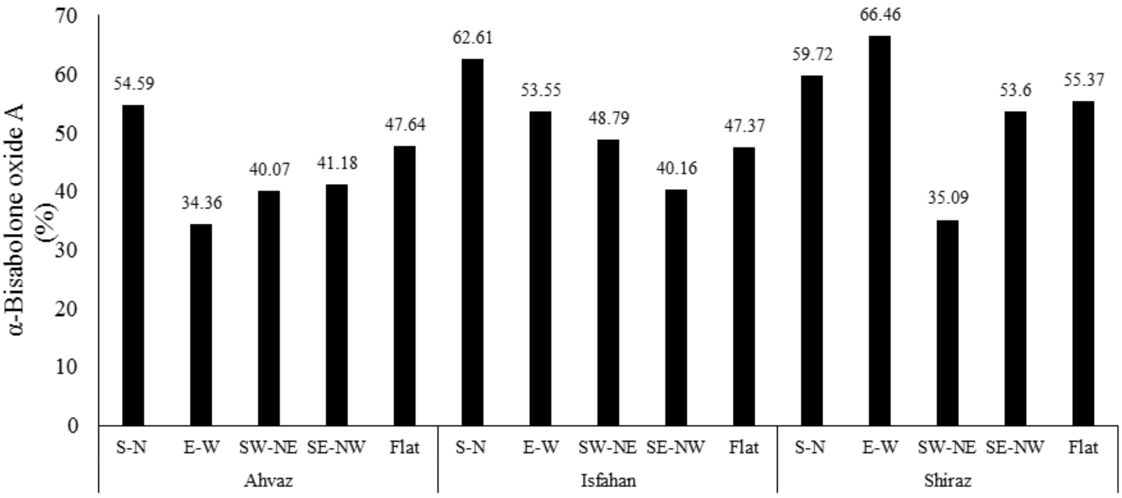
S-N (شمال- جنوب)، E-W (شرق- غرب)، Flat (کشت مسطح)، SW-NE (جنوب غربی- شمال شرقی)، SE-NW (جنوب شرقی- شمال غربی)

Populations and the geographical orientations of sowing rows

S-N= (South- North), E-W= (East-West), Flat (nonlinear sowing), SW-NE (South West- North East), SE-NW (South East- North West)

**شکل ۳- اثر متقابل توده×جهت‌های مختلف کشت بر محتوی بی- فارنسنA (٪) در اسانس بابونه آلمانی**

**Figure 3- Interaction effect of landrace×geografical orientation on b-Farnesene A content (%) in essential oil of German chamomile (LSD, *p≤0.05*)**




توده‌ها و جهت‌های جغرافیایی ردیف کاشت

S-N (شمال- جنوب)، E-W (شرق- غرب)، Flat (کشت مسطح)، SW-NE (جنوب غربی- شمال شرقی)، SE-NW (جنوب شرقی- شمال غربی)

Populations and the geographical orientations of sowing rows

S-N= (South- North), E-W= (East-West), Flat (nonlinear sowing), SW-NE (South West- North East), SE-NW (South East- North West)

**شکل ٤- اثر متقابل توده×جهت‌های مختلف کشت بر محتوی آلفا-بیسابولون اکساید A (درصد) در اسانس بابونه آلمانی**

**Figure 3- Interaction effect of landrace×geografical orientation on of α-Bisabolone oxide A content (%) in essential oil of German chamomile (LSD, *p≤0.05*)**

بیسابولون- اکساید آ: بالاترین درصد بیسابولون- اکساید آ در توده اصفهان در جهت شمال- جنوب (۳۶/۲ درصد) و در توده‌های اهواز (۳۲/۵ درصد) و شیراز (۲۸/۸ درصد) در جهت جنوب غربی- شمال شرقی به دست آمد. کم‌ترین بیسابولون- اکساید آ در توده شیراز در جهت شرق- غرب، در توده اهواز در جهت شما- جنوب و در توده اصفهان در جهت جنوب شرقی- شمال غربی به‌دست آمد (شکل ۴). بالاترین درصد آلفا بیسابولون اکساید آ در توده شیراز در جهت شرق-غرب مشاهده گردید (شکل ۴) در حالی‌که در توده‌های اصفهان و اهواز بالاترین درصد آلفا بیسابولون اکساید آ در جهت شمال- جنوب به‌دست آمد. در آزمایشی در خوزستان درصد آلفا بیسابولون اکسایدآ در شهرهای ملاثانی، مسجد سلیمان، رامهرمز، اندیمشک، بهبهان و ایذه به‌ترتیب ۶۳/۹، ۴۵/۱، ۵۸/۹، ۴۲/۱، ۷۰/۲ و ۷۵/۰ درصد اسانس گزارش شد (۲۵). در پژوهشی دیگر نیز ۱۲ توده بابونه آلمانی مورد ارزیابی کیفی قرار گرفته و درصد آلفا بیسابولون اکساید آ در اسانس آن‌ها از ۱۱/۳ تا ۶۵/۴ درصد متغییر بود (۲۳) که نشان‌دهنده تأثیر بالای ژنوتیپ بر محتوای این ترکیب است. در آزمایشی اثر تنش گرما و اسید سالیسیلیک بر ارقام بابونه بررسی شد و دامنه تغییرات آلفا بیسابولون اکساید آ از ۵۵/۳ تا ۷/۳ درصد متغییر بود (۱۰). در صربستان آلفا بیسابولون اکساید آ در بابونه آلمانی ۱۰-۱/۵ درصد گزارش شد (۳). در آزمایشی در کرج بالاترین محتوای آلفا بیسابولون اکساید آ در توده‌های بابونه آلمانی دشتستان (۵۸/۳ درصد) و اندیمشک (۶۳/۵ درصد) مشاهده شد (۱۶).

در یک نتیجه‌گیری کلی از آزمایش می‌توان گفت که با توجه به این‌که سطح وسیعی از اراضی کشور لب‌شور بوده و نیز با کمبود آب دچار هستند در این آزمایش تحت شرایط کم‌آبیاری و شوری خاک، جهت جغرافیایی خطوط کاشت توانست اثر مثبت بر اجزای عملکرد داشته باشد به‌صورتی که در هر سه توده، عملکرد کمی و کیفی در همه جهت‌های کشت نسبت به شاهد (کشت مسطح و غیر خطی) برتری نشان داد. بالاترین و پائین‌ترین عملکرد اسانس به‌عنوان اقتصادی‌ترین صفت، در توده اصفهان مشاهده شد به‌طوری‌که کاشت در جهت شرق- غرب (۱۰/۰۹ کیلوگرم در هکتار) نسبت به شاهد (۳/۱۴ کیلوگرم در هکتار) حدود ۲۲۱ درصد افزایش نشان داد. با توجه به این‌که انتخاب جهت کاشت هزینه چندانی بر کشاورز تحمیل نمی‌کند لذا در آزمایش‌های بعدی می‌توان این روش را به‌عنوان یک

الگوی مناسب برای افزایش کمیت و کیفیت محصول مورد ارزیابی مجدد قرار داد و در صورت تایید آن را ترویج نمود.

## سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به جهت مهیا ساختن امکان اجرای این آزمایش قدردانی می‌گردد.

## منابع


1- Abdali Mashhadi A.R., Nabi Pour M., and Bakhshandeh A.M. 2009. Study of effects topping on qualitative and quantitative of Silymarin in native populations of Milk thistle (*Silybum marianum* L.). Journal of Crop Production 2:1-14. (In Persian with English abstract)

2- Abdali Mashhadi A., Moradi Majd M., Bakhshandeh A., and Koochekzadeh A. 2017. Effect of sulfuric acid and biofertilizers on camazulene, essential oil content and quantitative characteristics of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Field Crop Science 48(3): 855-864. (In Persian with English abstract)

3- Acimovic M., Stankovic J., Cvetkovic M., Kiprovski B., and Todosijevic M. 2018. Essential oil ouality of tetraploid chamomile cultivars grown in Serbia. Journal of Essential OilBearing Plants 21(1): 15-22.

4- Adams R.P. 2004. Identification of essential oil component by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Illinois, U.S.A.

5- Adams R.P. 2001. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Carol Stream.

6- Ahmadi H., Rahimmalek M., and Zeinali H. 2014. Assessment of the genetic variation of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) populations using phytochemical, morphological and ISSR markers. Biochemical Systematics and Ecology 54(1): 190–197.

7- Ahmadian A., Ghanbari A., Siahsar B., Haydari M., and Ramroodi M., and Mousavinik S.M. 2011. Study of Chamomile's yield and its components under drought stress and organic and inorganic fertilizer using and their residue. Journal of Microbiology and Antimicrobials 3(2): 23-28.

8- Andalibi B., Zehtab Salmasi S., Ghassemi Gholezani K., and Saba J. 2011. Changes in essential oil yield and composition at different parts of dill (*Anethum graveolens* L.) under limited irrigation conditions. Journal of Agricultural Science 21(2):11–22. (In Persian with English abstract)

9- Corwin D.L., and Lesch S.M. 2005. Characterizing soil spatial variability with apparent soil electrical conductivity I. Survey protocols. Computers and Electronics in Agriculture 46: 103–133.

10- Dadkhah A.R. 2010. Effect of salt stress on growth and essential oil of *Matricaria chamomilla*. Research Journal of Biological Sciences 5(10): 643-646.

11- Dhingra K.K., Dhillon M.S., Grewal D.S., and Sharma K. 1986. Effect of row orientation on growth, yield and yield attributes of wheat sown on three dates. The Journal of Agricultural Science 107(2): 343-346.

12- Ghasemi M., Babaeian Jelodar N., Modarresi M., Bagheri N., and Jamali A. 2016. Increase of Chamazulene and α-Bisabolol contents of the essential oil of german chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) using salicylic acid treatments under normal and heat stress conditions. Foods 5(3): 1-14.

13- Jamshidi K. 2000. Effects of row spacing and plant density on quantitative aspects of chamomile flower (*Matricaria chamomilla*). Iranian Journal of Agriculture Science 31(1): 203-210. (In Persian with English abstract)

14- Kovats, V.E. 1958. Gas-chromatographische charakterisierung organischer Verbindungen. Teil 1: Retentionsindices aliphatischer Halogenide, Alkohole, Aldehyde und Ketone. Helvetica Chimica Acta. 41(7): 1915-1932.

15- Malekian M., Hemmati K., Ghasemnezhad A., and Barzali M. 2014. Effect of salicylic acid on quantitative and qualitative traits of German chamomile ecotypes**.** Journal of Crops Improvement 16(1): 185-196. (In Persian with English abstract)

16- Mavandi P., Assareh M.H., Dehshiri A., Rezadoost H., and Abdossi V. 2019. Flower biomass, essential oil production and chemotype identification of some Iranian *Matricaria chamomilla* Var. *recutita* (L.) accessions and commercial varieties. Journal of Essential Oil Bearing Plants 22(5): 1228-1240.

17- Mehdikhani H., Zeinali H., Solouki M., and Imamjomeh A. 2015. Investigation of agronomic traits and their relationships in German chamomile landraces (*Matricaria chamomilla* L.). Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 27(104): 81-90. (In Persian with English abstract)

18- Mirshekari B., Darbandi S., and Ejlali L. 2007. Effect of irrigation intervals, nitrogen rate and nitrogen splitting on essence of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Iranian Journal of Crop Sciences 9(2): 142-156. (In Persian with English abstract)

19- Montgomery M.E., and Nault L.R. 1977. Comparative response of aphids to the alarm pheromone (E)-β-farnesene. Entomologia Experimentalis et Applicata 22: 236-242.

20- Mutsaers H.J.W. 1980. The effect of row orientation, date and latitude on light absorption by row crops. The Journal of Agricultural Science 95: 381-386.
21- Naser Alavi S.M., and Shamsaddin saeid M. 2008. Effects of plant densities and row orientation on the seed and forage yield of grass sorghum in Bam. Journal of Water and Soil Science 12(45): 91-97. (In Persian with English abstract)
22- Nasiri M., Alizadeh S., Barari D., and Nasiri S. 2008. Study on the effect of planting directions (North-South and East-West) with transplanter machine on yield and yield components of different rice cultivars. Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) 78: 118-124. (In Persian with English abstract)
23- Nassiri S.M., Sepaskhah A.R., and Maharlooei M.M. 2016. The effect of planting methods on maize growth and yield at different irrigation regimes. Iran Agricultural Research 35(1): 27-32.
24- Niknejad M., Lebaschy H., Jaimand K., and Hatami F. 2013. Effect of organic and chemical fertilizers on essential oil of *Matricaria chamomilla* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 29(2): 373-386. (In Persian with English abstract)
25- Omidbaigi R., and Nobakht A. 2001. Nitrogen fertilizer affecting growth, seed yield and active substances of Milkthistle. Pakistan Journal of Biological Sciences 4(11): 1345-1349.
26- Orav A., Raal A., and Arak E. 2010. Content and composition of the essential oil of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert from some European countries. Natural Product Research 24(1): 48-55.
27- Piri E., Mahmoodi Sourestani M., Khaleghi E., Mottaghipisheh J., Zomborszki Z.P., Hohmann J., and Csupor D. 2019. Chemo-Diversity and antiradical potential of twelve *Matricaria chamomilla* L. populations from Iran: proof of ecological effects. Molecules 24(7): 1-14.
28- Romeilah R.M. 2009. Anticancer and antioxidant activities of *Matricaria chamomilla* L. and *Marjorana hortensis* essential oils. Research Journal of Medicine and Medical Sciences 4(2): 332-339.
29- Siadat S.A., and Direkvand-Moghadam F. 2016. The study of essential oil composition of *Matricaria chamomilla* in Khouzestan. Advanced Herbal Medicine 2(2): 1-5.
30- Singh S., Sandhu S.K., Dhaliwal L.K., and Singh I. 2012. Effect of planting geometry on microclimate, growth and yield of mungbean (*Vigna radiata* L.). Journal of Agricultural Physics 12(1): 70-73.
31- Xu Y., Wang Q., Bao W., and Pa B. 2019. Antihyperlipidemic effect, identification and isolation of the lipophilic components from *Artemisia integrifolia*. Molecules 24(4): 725.
32- Yang F., Fan Y., Wu X., Cheng X., Liu Q., Feng L., Chen J., Wang Z., Wang X., Yong T., Liu W., Liu J., Du J., Shu K., and Yang W. 2018. Auxin-to-gibberellin ratio as a signal for light intensity and quality in regulating soybean growth and matter partitioning. Frontiers in Plant Science 9: 56.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 195-208
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۰۸-۱۹۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Response of German Chamomile Landraces to the Geographical Orientations of Sowing Rows under Low Irrigation and Saline Soil Condition

**N. Shahabi[1]- A. Abdali Mashhadi[2*]- M.H. Gharineh[3]- A. Lotfi Jalal-Abadi[4]**
Received: 28-09-2019
Accepted: 16-02-2021

**Introduction:** The German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) is an annual herb from the Asteraceae family. This plant has many medicinal uses. Chamazulene, α-bisabolone oxide A and b-farnesene are part of essential oil components of German chamomile. Chamomile causes the chamomile essential oil to turn blue color. Chamazulene is the most important part of chamomile essential oil. Chamazulene has many therapeutic properties, including lowering total cholesterol and triglycerides and generally having a high anti-concentration effect of lipoprotein (Hyperlipidemia) in the blood. Most plants are more vulnerable in the early stages of growth. Within a region with adverse climatic conditions, microclimate can make more survival possible for the plants. In very warm and dry areas**,** in furrow sowing condition, seeds sowing in the bed of furrow in the different geographical orientations causes the formation of microclimates, especially in short plants and at the germination and seedling stages. For example, salt accumulation on the ridge and reducing soil salt in the bed of furrow improve growth conditions and on the other hand, shading the ridge on the furrow, by reducing the time of sunlight shining on the furrow bed reduces soil temperature and evapotranspiration in early stages of seedling growth. The geographical orientations of the sowing can affect the shading period time of the ridge on bed furrow.

**Materials and Methods:** Under low irrigation and saline-sodic soil condition (At a depth of 0 to 30 cm, with an average electrical conductivity of 7.7 $dS.m^{-1}$, pH 7.7, silty clay soil texture, 1% organic matter and with an altitude of 22 meters above sea level), a field experiment conducted in a factorial based on a randomized complete block design with three replications in Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University (North East of Ahvaz, 2016-2017). The experimental treatments were included the geographical orientations of sowing rows (control (nonlinear flat sowing) and orientations of sowing rows in the North-South, East-West, North East-South West, North West-South East) and chamomile landraces (Ahvaz, Isfahan, and Shiraz). The traits that were studied included: plant height, diameter of main stem, light extinction coefficient, capitule diameter, dry weight of 10 inflorescences, number of flowers per plant, number of stems per plant, dry inflorescence yield, essential oil percentage, essential oil yield, biological yield, percentage of chamazulene, α-Bisabolone oxide A and b-Farnesene in essential oil.

**Results and Discussion:** Experimental factors had no significant effect on dry weight of 10 inflorescences and capitule diameter. The lowest light extinction coefficient was observed in nonlinear flat sowing. The landraces had no significant effect on main stem diameter but the effect of geographical orientations of sowing rows were significant. The lowest and highest diameter of main stem were obtained from nonlinear flat sowing, respectively. The main effect of geographical orientations of sowing rows and interaction of populations and geographical orientations of sowing rows on number of stems per plant were significant. The highest number of stems per plant (15.2) was obtained from Shiraz landrace and northwest-southeast geographical orientation but the lowest number of stems per plant was in Shiraz landrace and nonlinear flat sowing (8.7). In both the highest and the lowest number of stems per plant, the landrace of Shiraz was common, this indicates a high effect of geographical orientations of sowing rows on this trait. The highest and the lowest of number of flowers per plant was observed in Isfahan landrace in north-south orientation (78.5) and Shiraz landrace and nonlinear flat sowing (49.5), respectively. The highest number of flowers per plant, dry inflorescence yield, and the highest biological yield were obtained from Isfahan landrace in the north-south, north-south and north west-south east orientations, respectively. The highest essential oil percentage was obtained from the Isfahan landrace (East-West orientation). The lowest and highest yield of essential oil was observed in Isfahan landrace and in nonlinear flat sowing and east-west direction, respectively, which increased by 221%. Isfahan landrace received different

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduate of Agroecology, Associate Professors and Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, respectively.
(*- Corresponding Author Email: alirezaabdali@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61645.0

signals due to different climatic conditions (Ahwaz) compared to the main region (Isfahan) and this increased the percentage and yield of essential oil even more than native landrace (Ahwaz population). The highest percentage of chamazulene, b-Farnesene, and α-bisabolone oxide were shown in the Ahwaz (north-south), Shiraz (south west-north east) and Isfahan (north to south) landraces, respectively.

**Conclusion:** Isfahan non-native landrace had higher biological yield (northwest-southeast orientation) and essential oil percentage (east-west orientation) and essential oil yield (east-west orientation) than Shiraz and Ahwaz native landraces. Generally, row sowing in the furrow and in a suitable geographical orientation can be a low-cost method to increase crop productivity.

**Keywords:** Chamazolene, Essential oil yield, Light extinction coefficient, Medicinal plant

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 209-221
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۲۱-۲۰۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# مقایسه درصد و اجزای اسانس دو ژنوتیپ ریحان افریقایی (*Ocimum gratissimum* L.) در دو فصل بهار و پائیز

فرنوش ملکشاهی[۱]- علی اشرف مهرابی[۲*]- الهه توکل[۳]- خسرو مهدی خانلو[۴]- وحید شریعتی جونی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۷

## چکیده

ژنتیک گیاه دارای نقش مهم در تعیین نوع و میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی می‌باشد و بر همین اساس همواره شناخت گونه‌ها و ارقام دارای توانمندی ژنتیکی بالا در تولید متابولیت‌های دلخواه در صدر برنامه‌های اصلاحی گیاهان دارویی قرار دارد. تحقیق حاضر با هدف بررسی تغییرات پروفایل شیمیایی اسانس دو ژنوتیپ با کد بذر ۲۷۸ و ۲۹۶ گیاه ریحان گونه گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum* L.) طی فصل‌های بهار و پائیز سال ۱۳۹۸، در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب طرح کرت های خرد شده در زمان انجام شد. بخش هوایی گیاهان در زمان‌های فوق در مرحله تمام گل برداشت و در سایه و دمای محیط خشک شدند. اسانس گیاهان خشک شده به روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر استخراج و کمیت و کیفیت اجزای اسانس گیاه با دستگاه GC-MS مورد آنالیز قرار گرفت. بر اساس نتایج آنالیز کیفی اسانس، ۵۰ ترکیب مختلف در اسانس ژنوتیپ‌های ۲۷۸ و ۲۹۶ گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم شناسایی شد. بیش از ۹۸ درصد ترکیبات شناسایی شده در اسانس این دو ژنوتیپ در پنج کلاس شیمیایی شامل مونوترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژن‌دار و سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژن‌دار و فنیل پروپانوئیدها قرار داشتند. تیمول جزء غالب اسانس ژنوتیپ ۲۷۸ در ماه‌های خرداد (۳۵/۴۸ درصد) و آبان (۴۵/۸۵ درصد) بود، ترکیب گاما ترپینن در ژنوتیپ ۲۷۸ از ۱۳/۱۵ درصد در خرداد ماه به ۲۵/۸۰ درصد در آبان ماه، افزایش یافت. تیمول در اسانس ژنوتیپ ۲۹۶ وجود نداشت و ترکیب دی‌هیدرواوژنول که به کلاس شیمیایی فنیل پروپانوئیدها تعلق دارد، به عنوان ترکیب اصلی اسانس ژنوتیپ ۲۹۶ گیاه ریحان گراتیسیموم شناخته شد و مقدار آن در دو برداشت تغییر معنی‌داری نداشت. در مجموع، با توجه به اجزای اصلی اسانس دو ژنوتیپ و رشد مناسب آن‌ها بصورت چندساله و امکان چندین برداشت در طول سال، تحقیقات بیشتر جهت کشت آنها در سطح وسیع در شرایط استان خوزستان توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس، اوژنول، تیمول، ریحان، ژنوتیپ

## مقدمه

خانواده نعناع یکی از بزرگترین خانواده‌های گیاهی محسوب می شود و با حدود ۲۰۰ جنس و ۳۲۰۰ گونه طیف وسیعی از گیاهان را در خود جای می‌دهد (۱۷). جنس اسیموم یکی از مهمترین جنس‌های خانواده نعناع بوده و یکی از ارزشمندترین گیاهان دارویی جهان به شمار می‌آید. گیاهان این جنس، بومی مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آسیا، آفریقا، مرکز و جنوب آمریکا هستند و به صورت خودرو در این مناطق یافت می‌شوند (۳۰). وجود چندشکلی و سهولت دگرگرده‌افشانی در جنس ریحان، سبب ایجاد طیف گسترده‌ای از تنوع درونی و بین فردی، گونه‌ها، واریته‌ها و فرم‌های متعددی در آن شده است و به همین دلیل تنوع بالایی در گیاهان این جنس از نظر مورفولوژی و ترکیبات شیمیایی مشاهده می‌شود (۲۳). تعداد گونه‌های جنس ریحان بین ۳۰ تا ۱۵۰ گونه گزارش شده است که شامل گیاهان علفی، یکساله و چندساله می‌باشند و از نظر عادت رشد، رنگ

---

۱- دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
۲- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام و دانشیار پژوهش، بخش زیست فناوری، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و توسعه کشاورزی، تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: a.mehrabi@rifr-ac.ir)
۳- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۴- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز
۵- استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری کرج

DOI: 10.22067/jhs.2021.61739.0

و ترکیبات معطر بسیار متفاوتند (۲۸).

گیاه ریحان دارای متابولیت‌های ثانویه ارزشمند و مهم در اندام‌های رویشی خود بوده و بر این اساس از دیرباز به عنوان اشتهاآور، داروی گیاهی ضدتشنج و ضدانگل شناخته شده است. علاوه بر این، این گیاه در طب سنتی در درمان بیماری‌هایی نظیر سردرد، سرفه، اسهال، ناراحتی‌های کلیوی و درمان برخی ناراحتی‌های قلبی نیز مورد استفاده فراوان بوده است (۱۹ و ۱۶). عصاره و اسانس گونه‌های مختلف گیاه ریحان، دارای خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی برجسته‌ای است و امروزه به‌طور گسترده در صنایع داروسازی به کار می‌رود (۱۳ و ۱۱). علاوه بر صنایع داروسازی، از برگ‌های تازه و خشک ریحان به عنوان چاشنی و ادویه و از اسانس آن به عنوان طعم‌دهنده و عامل ایجاد عطر و رنگ در صنایع غذایی استفاده می‌گردد (۲۲). همچنین، گیاهان این جنس به دلیل خواص ضد میکروبی خود دارای کاربرد فراوان در صنایع آرایشی- بهداشتی بوده و در ساخت عطرها، صابون‌ها، خمیردندان‌ها و دهان‌شویه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۳).

مهمترین گونه‌های جنس اسیموم، *Ocimum gratissimum*، *O. basilicum*، *O. Killmandscharicum*، *O. minimum*، *O. selloi*، *O. americanum*، *O. citriodrum* Vis. و *O. lamiifolium* می‌باشند (۱۲). گونه *O. gratissimum* گیاهی علفی و یک‌ساله، با ارتفاع حدود ۱ تا ۳ متر و برگ‌هایی به رنگ سبز لیمویی می‌باشد که بطور گسترده در جنوب و مرکز آمریکا و نواحی غربی آسیا مانند کشور هند پراکنده است (۳۷). این گونه به دلیل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی ارزشمند از جمله گونه‌های مهم جنس ریحان به شمار می‌آید و در صنایع مختلف به ویژه صنعت داروسازی مورد توجه فراوان می‌باشد. علاوه بر آن، بطور سنتی به عنوان خلط‌آور، تب‌بُر، ملین و کرم‌کُش و بهبود دهنده سردرد، گلودرد و بیماری‌های سیستم عصبی مرکزی مورد استفاده بوده است (۱۴ و ۷). این گونه حاوی ۰/۳۳ تا ۰/۹۳ درصد اسانس به‌ترتیب بر اساس وزن تر و خشک می‌باشد (۲۷). در بررسی دیگری که در دو منطقه نیجریه و سیرالئون صورت گرفت، دو واریته از گونه گراتیسیموم ارزیابی شده و درصد اسانس بر اساس وزن خشک، به ترتیب ۰/۸۴ و ۰/۹۳ گزارش گردید. اسانس این گیاه دارای فعالیت ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدعفونی و ضدانعقادی برجسته می‌باشد (۹ و ۳۱) که این ویژگی‌ها عمدتا به دلیل وجود ترکیب اوژنول (۵۳/۸۹ درصد) و در برخی واریته های دیگر آن تیمول (۴۲/۲ تا ۶۰/۵ درصد) است (۲ و ۳۷). ترکیبات اسانس با مقادیر متفاوتی از گونه گراتیسیموم بسته به محل جمع‌آوری (منشاء) و ژنوتیپ گزارش شده است. در یک بررسی که توسط لاورنس و همکاران (۲۰) انجام گردید، اجزای اسانس ژنوتیپ ۳۸۷؛ تیمول (۳۵/۴ درصد)، پی‌سیمن (۱۸/۳ درصد) و اوژنول (۱۰/۷ درصد)، و در ژنوتیپ 345C؛ تیمول (۴۶/۶ درصد) و گاما ترپینن (۲۲/۴ درصد)، در ناحیه جنوب غربی رواندا، و ژنوتیپ ۳۴۵ دارای تیمول (۴۶ درصد)، و ژنوتیپ ۳۸۷ حاوی تیمول (۳۵/۴) و اوژنول (۱۰/۷ درصد) از کشور ترکیه می‌باشند. اجزای اسانس در نواحی غربی کامرون، شامل تیمول (۴۶/۳ درصد)، گاماترپینن (۲۰درصد) و پی سیمن (۷ درصد) ذکر شده است (۱۸). اجزای غالب دیگر اسانس گونه گراتیسیموم کشت شده در کشور هند، ترکیبات سیس اُسیمن (۲۳/۹۷ درصد) و ژرماکرین دی (۱۰/۳۶ درصد) بودند (۲).

از آنجا که میزان و نوع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی از جمله گیاه ریحان از اهمیت ویژه‌ای در تعیین خواص درمانی آنها برخوردار است، همواره شناخت عوامل مؤثر بر کمیت و کیفیت این ترکیبات مورد توجه محققین مختلف بوده است. از جمله عوامل مؤثر بر میزان و اجزای انواع مختلف متابولیت‌های ثانویه در این گیاهان می‌توان به ژنتیک گیاه، عوامل فیزیولوژیکی، اندام گیاهی، نوع ساختار ترشحی، عوامل محیطی، شرایط خاکی، زمان و نحوه برداشت و انبارداری اشاره نمود (۱۰). اگرچه مناسب بودن شرایط اقلیمی و تغذیه کافی دارای اهمیت فراوان در رشد گیاه و تعیین کمیت و کیفیت این دسته از متابولیت‌ها در گیاهان دارویی می‌باشند اما عوامل مذکور به تنهایی جهت دستیابی به عملکرد بالای کمی و کیفی آنها کافی نیستند و ژنتیک گیاه نقش مهمی در تعیین نوع و میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی دارد. در واقع این صفات نیز همچون سایر صفات گیاه به توانایی ژنتیکی، نوع و میزان بیان ژن‌های دخیل در بیوسنتز آنها وابسته است و ژنوتیپی که در آن مسیرهای بیوشیمیایی تولید یک متابولیت خاص و پرکاربرد بیشترین فعالیت را دارد، حائز یک مدل ژنتیکی ارزشمند است. بر این اساس همواره شناخت گونه‌ها و ارقام دارای توانمندی ژنتیکی بالا در تولید متابولیت‌های دلخواه در صدر برنامه‌های اصلاحی گیاهان دارویی قرار داشته و توجهات فراوانی را به خود جلب کرده است. تاکنون مطالعات متعددی بر روی گونه‌ها و توده‌های مختلف گیاه ریحان صورت گرفته و نتایج آنها حاکی از وجود تفاوت‌های گسترده در میزان و اجزای اسانس و ترکیبات فنولی در میان گونه‌های مختلف این جنس است (۳۲، ۲، ۲۶، ۳۵، ۱۶، ۳۶ و ۲۵). در پژوهشی، ۳۳ ترکیب در اسانس برگ‌های *O. gratissimum* L. شناسایی و ترکیبات اصلی اجزای اسانس آن شامل اوژنول (۴۳/۲ درصد)، ۱ و ۸ سینئول (۸/ ۱۲ درصد) و بتا سلینن (۹ درصد) بود (۵).

شرایط اقلیمی مهم‌ترین عامل مؤثر در رشد گیاهان محسوب می‌شود و تغییرات اقلیمی تأثیر شگرفی بر مؤلفه‌های رویشی و تولید اقتصادی ماده مؤثره گیاهان دارویی می‌گذارد. زمان برداشت گیاهان دارویی چه در طول روز و چه در مراحل فنولوژیکی مختلف نقش عمده‌ای در تغییر تولید ماده موثره گیاهان دارند و این امر به دلیل نوسان فعالیت‌های متابولیکی گیاه تحت تاثیر عوامل مختلف محیطی در طول رشد گیاه می‌باشد (۲۱). در پژوهشی، گونه‌های متعدد جنس

اسیموم در فصول مختلف برداشت و نتایج نشان داد که مقدار و ترکیب اسانس به‌دست آمده از گونه‌های مختلف اسیموم، با توجه به منطقه جغرافیایی، مرحله رشدی و فصل برداشت، متفاوت بود. در تحقیق مذکور، درصد اسانس بر اساس وزن تر از ۰/۷۷-۰/۱۸ در فصل برداشت (آوریل- می) و ۰/۷۴-۰/۱۴ درصد در فصل برداشت(اکتبر- نوامبر) متفاوت بود (۳۴). علاوه بر میزان اسانس، ترکیبات عمده آن نیز در کموتایپ‌های مختلف از نواحی مختلف، با توجه به شرایط آب و هوایی، فصل و شرایط خاک متغیر است (۱۵).

اخیرا ژنوتیپ‌هایی از گونه گراتیسیموم از کشور آلمان وارد و به صورت آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران کشت شده است. نکته قابل توجه در مورد گونه گراتیسیموم، رشد گیاه بصورت چندساله است که می‌تواند گرمای طاقت فرسای تابستان اهواز و سرمای نزدیک به صفر در دی ماه را تحمل نمایند. طبق بررسی‌های به عمل آمده، تاکنون گزارشی از پروفایل شیمیایی اسانس گونه گراتیسیموم در ایران وجود ندارد. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی مقدار و اجزای اسانس دو ژنوتیپ با رایحه کاملا متفاوت در دو فصل رشدی بهار و پاییز طراحی و انجام شد.

## مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز واقع در حاشیه غربی رودخانه کارون با محدوده جغرافیایی ۳۱ درجه و ۲۰ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۴۰ دقیقه طول شرقی و با ارتفاع ۲۲/۵ متر از سطح دریا طی سال زراعی ۹۷ صورت گرفت. ژنوتیپ‌های مورد نظر گیاه ریحان گونه گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum* L.) شامل ۲۷۸ و ۲۹۶ بودند. بذر ژنوتیپ‌های مذکور از بانک بذر در آلمان تهیه و در اول اسفندماه ۱۳۹۷ در سینی نشاء حاوی بستر کوکوپیت و پرلیت کشت شدند. قوه نامیه بذرها ۸۰ درصد بود و با توجه به کشت سه عدد بذر در هر خانه سینی، تعداد گیاهچه کافی به مرحله انتقال به مزرعه رسید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله مناسب (مرحله ۶ تا ۸ برگ حقیقی)، نشاء ها در ۱۰ فروردین ۱۳۹۸ در کرت هایی با ابعاد ۲ × ۲ متر، با فاصله ۴۰ سانتی‌متر بین دو بوته و ۴۰ سانتی‌متر بین ردیف، کشت شدند. عملیات داشت شامل آبیاری به‌صورت نشتی و بر اساس شرایط اقلیمی منطقه و نیاز گیاه صورت گرفت و کنترل علف هرز به‌صورت دستی انجام شد. قبل از شروع آزمایش و کاشت گیاه، نمونه مرکب از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متری خاک، به‌طور تصادفی تهیه و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). سرشاخه‌های ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شامل برگ و گل در مرحله گلدهی کامل (تمام گل) در دو فصل بهار ۱۳۹۸ (۲۰ خرداد، ۷۰ روز پس از کاشت در مزرعه) و پائیز ۱۳۹۸ (۲۰ آبان، ۲۲۰ روز پس از کاشت در مزرعه) برداشت و در دمای محیط (دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و سایه خشک شدند.

آزمایش بصورت کرت‌های خرد شده در زمان در نظر گرفته شد. فاکتور اول ژنوتیپ (کرت اصلی) در دو سطح : کد بذرهای ۲۷۸ و ۲۹۶ و فاکتور زمان برداشت گیاه در چهار سطح: فصول بهار، تابستان، پائیز و زمستان بود. متاسفانه امکان برداشت گیاه طی فصل تابستان به دلیل گرما بیش از حد و عدم شرایط مناسب گیاه برای برداشت (برگ کم و عدم گلدهی) و فصل زمستان به دلیل سرمای دی ماه و مقدار کم برگ گیاه میسر نبود. بنابراین آنالیز داده های بدست آمده با نرم افزار MSTATC برای دو فصل و دو ژنوتیپ انجام شد.

**جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری)**
**Table 1- Physical and chemical properties of the soil (0-30 cm)**

| بافت خاک Soil texture | pH | هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$) | مواد آلی Organic matter (%) | نیتروژن کل Total N (%) | فسفر قابل جذب Absorbale P ($mg.kg^{-1}$) | پتاسیم قابل جذب Absorbale K ($mg.kg^{-1}$) | آهن Fe ($mg.kg^{-1}$) | مس Cu ($mg.kg^{-1}$) | روی Zn ($mg.kg^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شنی- لومی Loamy sand | 7.11 | 2.84 | 0.48 | 0.03 | 16.6 | 267 | 23.1 | 3.36 | 10.90 |

جهت استحصال اسانس، مقدار ۵۰ گرم از پیکره رویشی به همراه ۱۳۰۰ میلی‌لیتر آب درون بالن‌های ۲ لیتری ریخته شده و اسانس گیاه به مدت ۳ ساعت با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب استخراج شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده پس از توزین و آبگیری با سولفات سدیم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی نگهداری شدند. آنالیز کمّی و کیفی ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس به ترتیب توسط دستگاه‌های گاز کروماتوگرافی[1] و گازکروماتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی[2] با مشخصات زیر انجام شد.

بدین منظور از دستگاه گازکروماتوگرافی مدل Shimadzu -17A

1- Gas Chromatography (GC)
2- Gas Chromatography- Mass spectrometry (GC/MS)

مجهز به ستون موئینه SGE™BP5 (به طول ۳۰ متـر و قطـر ۰/۳۲ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز سـاکن ۰/۲۵ میکرومتـر) اسـتفاده گردیـد. دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۱ دقیقه) بود که با ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقه به دمـای نهـایی ۲۵۰ درجـه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۲ دقیقه) رسید. درجـه حـرارت محفظـه تزریق و آشکارساز نیز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بـود. از گاز هلیم به عنوان گاز حامل استفاده شـد کـه سـرعت حرکـت آن در طول ستون، ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

### اندازه گیری ترکیبات اسانس با دستگاه GC/MS

جهت آنالیز کیفی اجزای اسـانس از دسـتگاه گـاز کرومـاتوگرافی متصل به طیف‌سنج جرمی نوع Agilent مـدل ۷۸۹۰ سـتون HP-5 ms (به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه فاز سـاکن ۰/۲۵ میکرومتر) استفاده شد. دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی‌گراد (با زمان نگهداری ۱ دقیقه) بود که با ۵ درجه سانتی‌گراد افزایش در هر دقیقـه به دمای نهایی ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد (بـا زمـان نگهـداری ۲ دقیقـه) رسید. درجه حرارت محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیـب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. در این دستگاه نیز از گاز هلـیم بـه عنـوان گـاز حامل استفاده شد که سرعت حرکت آن در طول ستون، ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و زمان اسکن برابر ۱ ثانیه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت بود.

اسانس‌ها به دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌نگار جرمـی تزریق گردید و طیف جرمی ترکیب‌های اسانس به‌دست آمد. شناسایی طیف‌ها به کمـک بانـک اطلاعـات جرمـی، زمـان بـازداری، مطالعـه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوهای شکست آن‌ها، مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد و با استفاده از منـابع معتبـر انجام شد (۱). علاوه بر آن، ان آلکان ها با شرایط مشابه آنالیز اسانس به دستگاه تزریق و شاخص کواتس برای هر کدام از ترکیبات اسانس با توجه به فرمول زیر محاسبه و شناسایی اجزای اسـانس بـا مقایسـه شاخص کواتس هر ترکیب و شـاخص گـزارش شـده در منـابع تاییـد گردید.

$$I = 100 \times [n + ((N - n) \times \frac{t_{r(unknown)} - t_{r(n)}}{t_{r(N)} - t_{r(n)}})]$$

در این فرمول، I[1] = شاخص کواتس، n = عـدد کـربن در آلکـان کوچک‌تر، N = عدد کربن در آلکان بزرگ‌تر، $t_{r\ (unknown)}$ = زمان ثبـت ترکیب ناشناخته، $t_{r\ (N)}$ = زمان ثبت هیدروکربن با آلکان بزرگ‌تر و $t_{r\ (n)}$ = زمان ثبت هیدروکربن با آلکان کوچک‌تر می‌باشد.

## نتایج و بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان اسانس گونه گراتیسـیموم بیشتر متاثر از ژنوتیپ می‌باشد و کمتر تحت تاثیر شرایط محیطـی دو فصل مورد مطالعه قرار می‌گیرد (جـدول ۲). میـزان اسـانس ژنوتیـپ ۲۷۸ به ترتیب در فصل بهار و پاییز، ۰/۷۶ و ۰/۷۲ درصـد و ژنوتیـپ ۲۹۶ حدودا دو برابر ژنوتیپ ۲۷۸ اسانس داشت که بـه ترتیـب فصـل ۱/۴۱ و ۱/۴۹ درصد بود (جـدول ۳). بـر اسـاس نتـایج آنـالیز کیفـی اسـانس توسـط دسـتگاه GC/MS، ۵۰ ترکیـب مختلـف در اسـانس ژنوتیپ‌های ۲۷۸ و ۲۹۶ گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم شناسایی شد (جدول ۱). کروماتوگرام دو نمونه در شکل ۱ نشـان داده شـده اسـت. مونوترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژن‌دار در مجمـوع حـدود ۹۰ درصـد ترکیبـات اسـانس اسـتخراج شـده از ژنوتیـپ ۲۷۸ گیـاه ریحـان گراتیسیموم در ماه‌های خرداد و آبان را تشکیل داده و پـس از آن، بـه ترتیب سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنه و اکسیژن‌دار در رده‌های بعـدی قرار داشتند. اجزای غالب اسانس این ژنوتیـپ در مـاه خـرداد، تیمـول (۳۵/۴۸ درصـد)، گامـا- تـرپینن (۱۳/۱۵درصـد)، پـی- سـیمن (۱۱/۳۱درصـد)، آلفـا- تـوژن (۴/۷۶ درصـد)، ژرمـاکرین- دی (۳/۷۳ درصد)، کـاریوفیلن (E) (۳/۶۶ درصـد)، میرسـن (۲/۹۳ درصـد)،آلفا- ترپینن (۲/۶۳ درصد)، و بورنئول (۲/۲۸ درصد) بودنـد کـه حـدود ۸۰ درصد ترکیبات شیمیایی اسانس این ژنوتیپ را تشکیل دادنـد (جـدول ۴). ترکیبات تیمول (۴۵/۸۵ درصد) و گامـا- تـرپینن (۲۵/۸۰ درصـد) ژنوتیپ ۲۷۸ در آبان ماه نسبت به خرداد ماه بیشتر بود، این در حـالی است که ترکیب پی- سیمن (۳/۵۶ درصد)، کاهش چشمگیری نسبت به خرداد ماه داشته است. ترکیبات دیگر شـامل آلفـا- تـرپینن (۳/۳۸ درصد)، میرسن (۳/۰۱ درصد)، آلفا- توژن (۲/۹۴ درصد)، ژرمـاکرین- دی (۲/۷۶ درصد) و کاریوفیلن (E) (۱/۵۱ درصد) نسبت به خردادمـاه تغییـر محسوسـی نداشـت. ترکیـب بتـا- سـلینن (۱/۱۱ درصـد) و بورنئول(۰/۷۱ درصد) در پاییز بسیار اندک بود. در ژنوتیپ ۲۹۶ ریحان گراتیسیموم حـدود ۸۰ درصـد ترکیبـات اسـانس متعلـق بـه کـلاس شیمیایی فنیل پروپانوئیدی بود و اجزای اصلی اسانس آن به ترتیب در ماه‌های خرداد و آبان می‌توان به ۴ ترکیب دی‌هیدرواوژنول (به ترتیب ۸۱/۱۸ و۷۹/۲۰ درصد)، بتا- اسـیمن (Z) (بـه ترتیـب ۱۱/۸۹ و ۳/۴۰ درصد)، ژرماکرین- دی (به ترتیب ۳/۵۸ و ۲/۸۰ درصد) و کـاریوفیلن (E) (به ترتیب ۰/۵۲و ۲/۶۸ درصد) اشاره نمود.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار اسانس دو ژنوتیـپ تحـت تاثیر فصل برداشت قرار نمی‌گیرد ولی میزان آن در دو ژنوتیپ متفاوت بود (جدول ۲ و ۳). میزان اسانس گیاهان دارویی تحت تـاثیر تعـداد و اندازه اندام های ترشح کننده و ذخیره اسانس قرار می گیـرد. عوامـل محیطی با تاثیر بر دو عامل فوق باعث کاهش یا افـزایش اسـانس در گیاهان می شود. با این وجود، ژنوتیپ گیـاه مهمتـرین عامـل تعیـین

1- Index Kovats

کننده تعداد و اندازه کرک های ترشحی است. بنابراین به نظر می رسد که عوامل محیطی در آزمایش حاضر تاثیر چندانی بر دو عامل مهم فوق نداشته است و میزان اسانس در هر ژنوتیپ در دو فصل مورد مطالعه نسبتا یکسان بود. پروفایل اسانس در دو ژنوتیپ مورد مطالعه کاملا متفاوت بود که با اجزای اسانس گزارش شده در منابع مختلف روی گونه گراتیسیموم مطابقت داشت. بر اساس تحقیقات انجام شده، اوژنول و تیمول به عنوان ترکیب اصلی اسانس گیاه ریحان گراتیسیموم ذکر شده است (۶).

**جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر ژنوتیپ و زمان برداشت بر میزان اسانس گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum*)**

**Table 2- ANOVA for the effect of Genotype and Harvest time on Essential oil content of African basil (*Ocimum gratissimum*)**

| منابع تغییرات<br>Source of variation | درجه آزادی<br>Degree of fredom | میانگین مربعات<br>Mean Squares |
|---|---|---|
| تکرار<br>Replication | 9 | 0.003 $^{ns}$ |
| ژنوتیپ<br>Genotype | 1 | 5.034 $^{*}$ |
| تکرار × ژنوتیپ<br>Replication × Genotype | 9 | 0.002 $^{ns}$ |
| زمان برداشت<br>Harvest time | 1 | 0.005 $^{ns}$ |
| ژنوتیپ × زمان برداشت<br>Genotype × Harvest time | 1 | 0.033 $^{**}$ |
| تکرار × زمان برداشت<br>Replication × Harvest time | 9 | 0.003 $^{ns}$ |
| خطای آزمایشی<br>Error | 9 | 0.033 |

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

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

**جدول ۳- اثر متقابل ژنوتیپ × زمان برداشت بر میزان اسانس گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum*)**

**Table 3- The interaction effect of Genotype ×Harvest time on Essential oil content of African basil (*Ocimum gratissimum*)**

| ژنوتیپ<br>Genotype (Code) | زمان برداشت<br>Harvest time | میزان اسانس<br>Essential oil content (%) |
|---|---|---|
| 278 | بهار<br>Spring | 0.76 $^{c}$ |
| | پاییز<br>Autumn | 0.72 c |
| 296 | بهار<br>Spring | 1.41 $^{b}$ |
| | بهار<br>Autumn | 1.49 $^{a}$ |

در یک بررسی که بر روی ۷ گونه از جنس ریحان انجام گردید، گونه[1] (*Ocimum gratissimum* L) (نژاد زمینی۱) با میزان اوژنول ۷۴/۳ و ۵۳/۴ درصد به ترتیب در برگ‌ها و گل آذین در فصل برداشت (آوریل- می) و مقادیر ۸۹/۵ و ۶۴/۴۱ درصد در فصل برداشت (اکتبر- نوامبر) به عنوان یک منبع غنی از اوژنول شناخته شد، این گونه دارای محتوی اسانس ۰/۶۴ درصد بوده و با توجه به مقدار بالای اوژنول در برگ‌ها، مورد توجه می‌باشد. در حالی که پروفایل اجزای اسانس گونه گراتیسیموم[2] (نژاد زمینی۲) متفاوت بود و دارای بیشترین مقدار متیل ایزو اوژنول با مقادیر ۴۰/۲۶ و ۳۸/۰۷ درصد به ترتیب در برگ‌ها و گل آذین بود. همچنین حداکثر میزان آلفا- توژن درنژاد زمینی۱ مشاهده گردید و هر دو گونه دارای ترکیب سیس بتا- سیمن در برگ‌ها بودند. در پژوهش فوق، فصل برداشت و

1- Land race1

2- Land race2

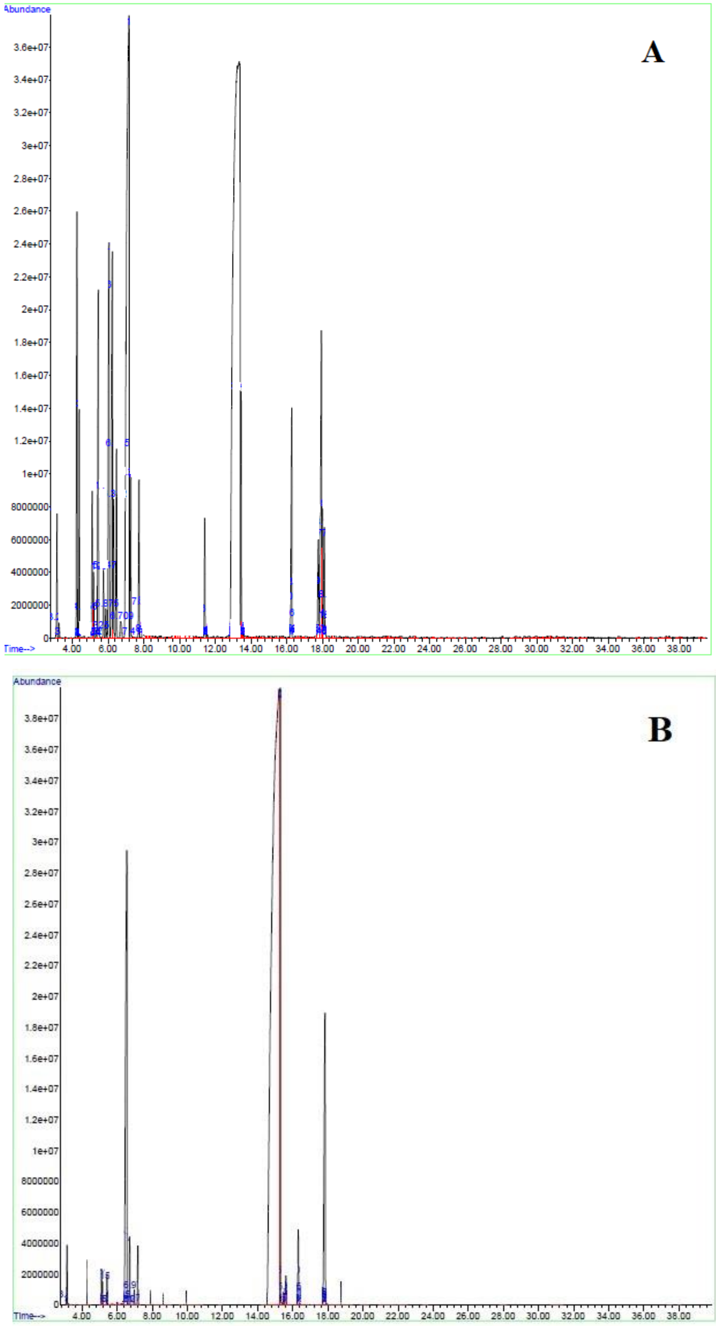
اندام گیاهی، بیشترین تاثیر را در تعیین زمان مناسب جهت حصول بیشترین مقادیر عملکرد اسانس و ترکیبات شیمیایی مناسب داشتند. به طوری که محتوی اسانس گل، حدود ۰/۴ درصد گزارش شد، در حالی که محتوی اسانس کل گیاه ۰/۲۵-۰/۱ درصد بود. همچنین عملکرد اسانس گل، ۱۳-۱۲ کیلوگرم در هکتار و عملکرد اسانس کل گیاه ۲۳-۱۸کیلوگرم در هکتار بود (۳۴). در مطالعه دیگری ۳۳ ترکیب به ترتیب در اسانس برگ‌های (*O. gratissimum* L.) شناسایی گردید. ترکیبات اصلی اجزای اسانس گونه گراتیسیموم شامل اوژنول (۴۳/۲ درصد)، ۱ و ۸ سینئول (۱۲ /۸ درصد) و بتا سلینن (۹ درصد) بود (۵).

**جدول ٤- ترکیبات اسانس ژنوتیپ‌های ۲۷۸ و ۲۹٦ گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum* L.) در فصل بهار و پائیز**

**Table 4- Essential oil components of two genotypes of African basil (*Ocimum gratissimum* L.) at spring and fall seasons**

| ردیف No. | ترکیب Compounds | زمان بازداری Retention index | شاخص کواتس محاسبه شده Kovats index (calculated) | شاخص کواتس منابع Kovats index (reference) | *O. g* (278)-2 | 278 | *O. g* (296)-2 | 296 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | خرداد June | آبان October | خرداد June | آبان October |
| 1 | α -Thujene | 4.89 | 920 | 924 | 4.76 | 2.94 | 0.18 | 0.36 |
| 2 | α-Pinene | 5.02 | 927 | 932 | 1.74 | 0.90 | – | 0.06 |
| 3 | Camphene | 5.30 | 942 | 946 | 0.23 | 0.09 | – | – |
| 4 | Sabinene | 5.76 | 966 | 969 | 0.63 | 0.63 | 0.35 | 0.42 |
| 5 | β-Pinene | 5.84 | 971 | 974 | 0.64 | 0.25 | – | – |
| 6 | Myrcene | 6.09 | 983 | 988 | 2.93 | 3.01 | 0.21 | 0.23 |
| 7 | α-Phellandrene | 6.40 | 1000 | 1002 | 0.26 | 0.36 | – | – |
| 8 | δ-3-Carene | 6.54 | 1006 | 1008 | 0.24 | 0.17 | – | – |
| 9 | α-Terpinene | 6.70 | 1012 | 1014 | 2.63 | 3.38 | – | 0.20 |
| 10 | ρ-Cymene | 6.88 | 1019 | 1020 | 11.31 | 3.56 | – | 0.23 |
| 11 | Limonene | 6.97 | 1023 | 1024 | 0.98 | 0.86 | – | 0.05 |
| 12 | β -Ocimene (Z) | 7.14 | 1030 | 1032 | 0.28 | 1.40 | 11.89 | 3.40 |
| 13 | β-Ocimene (E) | 7.40 | 1040 | 1044 | 0.12 | 0.20 | 0.45 | 0.12 |
| 14 | γ -Terpinene | 7.79 | 1056 | 1054 | 13.15 | 25.80 | – | 0.32 |
| 15 | cis-Sabinene hydrate | 7.91 | 1061 | 1065 | 0.76 | 1.86 | 0.40 | 0.36 |
| 16 | Terpinolene | 8.46 | 1084 | 1083 | 0.83 | 0.83 | – | 0.09 |
| 17 | Linalool | 8.69 | 1093 | 1095 | 1.17 | 029 | 0.10 | 0.35 |
| 18 | 2,5-Dimethyl styrene | 9.05 | 1106 | 1099 | – | 0.16 | – | – |
| 19 | Allo-Ocimene | 9.48 | 1126 | 1128 | – | – | 0.17 | 0.19 |
| 20 | 1-allo-Terpineol | 9.79 | 1131 | 1130 | 0.33 | 0.08 | – | 0.07 |
| 21 | Isoborneol | 10.53 | 1156 | 1155 | 0.62 | 0.12 | – | – |
| 22 | Borneol | 10.86 | 1167 | 1165 | 2.28 | 0.71 | 0.12 | 0.68 |
| 23 | ρ Cymen-8-ol | 11.16 | 1177 | 1179 | 0.53 | 0.13 | – | 0.07 |
| 24 | α-Terpineol | 11.24 | 1185 | 1186 | 0.26 | – | – | 0.21 |

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 25 | Nerol | 12.43 | 1224 | 1227 | 0.60 | 0.32 | − | |
| 26 | Neral | 12.63 | 1235 | 1234 | 0.06 | − | − | |
| 27 | Geraniol | 13.17 | 1246 | 1249 | 0.21 | − | − | |
| 28 | Geranial | 13.50 | 1274 | 1264 | 0.24 | − | − | |
| 29 | Thymol | 14.35 | 1295 | 1289 | 35.48 | 45.85 | − | |
| 30 | Carvacrol | 14.46 | 1299 | 1298 | 0.61 | 0.50 | − | |
| 31 | Eugenol | 15.96 | 1353 | 1356 | 0.17 | 0.08 | − | 0.10 |
| 32 | Dihydro-Eugenol | 16.44 | 1371 | 1366 | − | − | 81.18 | 79.20 |
| 33 | α- Copaene | 16.51 | 1372 | 1374 | 0.21 | 0.14 | − | − |
| 34 | Geranyl acetate | 16.66 | 1378 | 1379 | − | − | 0.33 | 0.85 |
| 35 | β-Elemene | 16.95 | 1388 | 1389 | 0.30 | 0.23 | 0.26 | 0.92 |
| 36 | Methyl eugenol | 17.62 | 1397 | 1403 | − | 0.11 | − | − |
| 37 | Caryophyllene (E) | 17.74 | 1417 | 1417 | 3.66 | 1.51 | 0.52 | 2.68 |
| 38 | Trans- α-Bergamotene | 18.12 | 1431 | 1432 | 0.07 | 0.22 | − | 0.16 |
| 39 | α-Guaiene | 18.22 | 1435 | 1437 | 0.29 | 0.08 | − | − |
| 40 | α-Humulene | 18.65 | 1451 | 1452 | 0.65 | 0.23 | − | 0.22 |
| 41 | Germacrene D | 19.55 | 1484 | 1484 | 0.73 | 2.76 | 3.58 | 2.80 |
| 42 | β-Selinene | 19.64 | 1488 | 1489 | 3.73 | 1.11 | − | − |
| 43 | α-Selinene | 20.03 | 1502 | 1498 | 1.31 | 0.16 | − | 0.18 |
| 44 | δ -Cadinene | 20.31 | 1514 | 1513 | 0.10 | − | − | 0.12 |
| 45 | 7-epi-α Selinene | 20.36 | 1515 | 1520 | 0.18 | 0.08 | − | − |
| 46 | γ-Cadinene | 20.47 | 1520 | 1522 | 0.22 | 0.09 | 0.15 | 0.44 |
| 47 | cis-Calamenene | 20.73 | 1532 | 1528 | 0.08 | − | − | 0.05 |
| 48 | Bicyclosesquiphellandrene | 23.57 | 1646 | 1647 | 0.12 | − | − | |
| 49 | α-Cadinol | 23.80 | 1655 | 1652 | 0.25 | − | − | |
| 50 | α-Bisabolol | 24.58 | 1686 | 1685 | 0.16 | − | − | 0.59 |
| | monoterpenes hydrocarbons | | | | 43.79 | 45.58 | 14.09 | 7.22 |
| | monoterpenes oxygenated | | | | 41.23 | 47.71 | 0.12 | 1.02 |
| | sesquiterpenes hydrocarbons | | | | 11.65 | 6.59 | 4.51 | 7.94 |
| | sesquiterpenes oxygenated | | | | 0.41 | − | − | 1.18 |
| | Phenylpropanoids | | | | 0.28 | 0.08 | 81.18 | 79.30 |
| | Total | | | | 97.35 | 99.96 | 99.89 | 96.66 |




**شکل ۱- کروماتوگرام ترکیبات شیمیایی اسانس ژنوتیپ های گیاه دارویی ریحان گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum* L.). (A): ژنوتیپ ۲۷۸؛ (B): ژنوتیپ ۲۹۶**

**Figure 1- Chromatogram of the chemical composition oil of African basil (*Ocimum gratissimum* L.) genotypes. (A): Genotype 278; (B): Genotype 296**

ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس گیاهان دارویی بطور عمده محصول دو مسیر بیوسنتزی موالونیک اسید و شیکمیک اسید هستند. ترکیبات ترپنوئیدی همچون تیمول از طریق مسیر موالونیک اسید سنتز و ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نظیر دی‌هیدرواوژنول و

اوژنول طی مسیر شیکمیک اسید ساخته می‌شوند. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر به نظر می‌رسد مسیر تولید ترکیبات اسانس در ژنوتیپ ۲۷۸ از فنیل پروپانوئیدهایی نظیر اوژنول به سمت تولید ترکیبات مونوترپنی همچون تیمول سوق یافته است که این امر می‌تواند به دلیل افزایش بیان ژن آنزیم‌های مسیر موالونیک اسید باشد. در ژنوتیپ ۲۹۶ گیاه ریحان گراتیسیموم نیز افزایش میزان ترکیب دی‌هیدرواوژنول ممکن است ناشی از بیان بیشتر ژن آنزیم‌های مسیر تولید این ترکیب فنیل پروپانوئیدی نسبت به ترکیب اوژنول باشد. تحقیقات مختلف حاکی از بیان متفاوت ژن آنزیم‌های مسیرهای بیوسنتزی در مراحل رشدی و زمان‌های مختلف برداشت گیاه به عنوان یکی از مهمترین عوامل اثرگذار بر کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان دارویی می‌باشد (۳۴). ترکیباتی مانند پی- سیمن و گاما- ترپینن در ژنوتیپ ۲۷۸ در زمان‌های مختلف برداشت تغییر محسوسی داشتند که نشان دهنده تاثیر دما بر فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیر سنتز اجزای اسانس در ژنوتیپ مورد مطالعه می‌باشد. برعکس به نظر می‌رسد که مقدار ترکیب دی هیدرواوژنول در ژنوتیپ ۲۷۸ در ماه‌های خرداد و آبان تحت تاثیر شرایط محیطی در دو فصل قرار نمی‌گیرد.

ترکیب تیمول یک مونوترپن اکسیژن‌دار مشتق شده از سیمن بوده و کارواکرول، ایزومر آن می‌باشد. گیاه آویشن (*Thymus vulgaris* L.) از خانواده نعناعیان، منبع اصلی تیمول به شمار می‌آید و میزان ترکیب فوق در این گیاه در دامنه ۱۰ تا ۶۴ درصد می‌باشد (۶). میزان این ترکیب در گونه (*Thymus broussonetii* Boiss.) گیاه آویشن، ۳۶/۷ درصد و در گیاه آویشن شیرازی (*Zataria multifhora* Boiss.)، ۵۹ درصد ذکر شده‌اند (۸ و ۲۴). علاوه بر گیاه آویشن، منابع مختلف به میزان بالای این ترکیب در گونه‌های مختلف گیاه مرزه (*Satureja rechingeri* Jamzad, *Satureja bakhtiarica* Bonge L.) از خانواده نعناعیان، گیاه *Trachyspermum copiticum* از خانواده چتریان و گیاه (*Lippia multiflora* Molldenke) از خانواده شاه‌پسند اشاره دارند (۴ و ۲۹). در مسیر بیوسنتز تیمول و کارواکرول، ترکیبات حدواسطی همچون ژرانیول پیروفسفات و سیتوکروم P450 اکسیداز دخیل هستند (۳۳) و با توجه به بالا بودن میزان این ترکیب در ژنوتیپ ۲۷۸ گونه گراتیسیموم گیاه ریحان به نظر می‌رسد آنزیم‌های مسیر بیوسنتز تیمول، بیان بالاتری داشته و می‌توان این گیاه را به عنوان یک ژنوتیپ دارای مقدار بالای ترکیب تیمول در جنس اسیموم گزارش نمود. با توجه به رشد و بیوماس مناسب ژنوتیپ ۲۷۸ و حداقل دو نوبت برداشت گیاه در هر سال و میزان اسانس و تیمول در سطح آویشن، شاید بتوان ژنوتیپ مذکور را در شرایط خوزستان که مناسب رشد آویشن نمی‌باشد، کشت نمود که مطمئنا توصیه مذکور نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد.

علاوه بر ترکیب تیمول، رابطه مستقیم میان میزان بیان ژن اوژنول سنتاز و میزان ترکیب اوژنول به ویژه در برگ‌های جوان و گل‌آذین گونه‌های جنس اسیموم و همبستگی مثبت سطح رونویسی آنزیم کونیفریل الکل آلکیل ترانسفراز (مجموعه آنزیمی کلیدی در هدایت سوبسترا به سمت ترکیبات فنیل پروپانوئیدی) با فراوانی ترکیب کونیفریل الکل (ترکیب حدواسط کلیدی در مسیر بیوسنتزی فنیل پروپانوئیدها)، حاکی از فعال بودن محصولات نهایی این مسیر بیوسنتزی جنس اسیموم می‌باشد (۳). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد ترکیب فنیل پروپانوئیدی دی‌هیدرواوژنول ترکیب غالب اسانس ژنوتیپ ۲۹۶ گیاه ریحان گراتیسیموم بود و به این ترتیب به نظر می‌رسد افزایش میزان ترکیب مذکور ممکن است ناشی از بیان بیشتر ژن آنزیم‌های مسیر تولید آن نسبت به اوژنول، ترکیب فنیل پروپانوئیدی دیگر، باشد. در این پژوهش، ترکیبات موجود در اسانس ریحان گراتیسیموم تحت تاثیر ژنوتیپ گیاه بوده و کمتر تحت تاثیر فصل برداشت (بهار-پاییز) قرار داشت.

غنچه گل گیاه میخک هندی (*Syzigium aromaticum* L.) یکی از منابع اصلی ترکیب اوژنول است که از زمان‌های قدیم در هند استفاده می‌شود. در ایران نیز گلچه‌های میخک برای تسکین درد دندان و به عنوان ادویه جهت معطر نمودن غذا و غیره مصرف می‌شود. کشت گیاه میخک با توجه به نیازهای خاص آب و هوایی و خاک به مناطق جنوبی هند و اندونزی محدود شده است و علی‌رغم سابقه کشت ۱۵۰ ساله در هند نیز سطح زیر کشت آن توسعه پیدا نکرده است. علاوه بر آن، گلدهی گیاه تحت شرایط مدیریت خوب در سال چهارم شروع و در سال پانزدهم به مرحله بلوغ و گلدهی کامل می‌رسد که از یک درخت ۱۵ تا ۲۰ ساله حدود ۳ تا ۴ کیلوگرم غنچه گل برداشت می‌شود. بنابراین علی‌رغم درصد اسانس و همچنین اوژنول بالا، محققین به دنبال گیاه جایگزین مناسبی برای میخک هستند و برخی از گونه‌های ریحان با توجه به دوره رشد کوتاهتر (۶۰ تا ۹۰ روز) و تعداد برداشت بیشتر در سال نسبت به میخک، توصیه شده است (۳۴). با توجه به شرایط آب و هوایی کشور ایران، تاکنون گزارشی از کشت تجاری میخک در ایران وجود ندارد و عمده میخک موجود در عطاری ها و مورد نیاز کارخانجات از کشورهای خارجی مثل هند و اندونزی تامین می‌شود. از طرفی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در شرایط خوزستان، ژنوتیپ ۲۹۶ حاوی مقدار مناسبی اسانس و دی هیدرواوژنول می‌باشد. بنابراین پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بیشتری با هدف توسعه کشت گیاه در خوزستان و استان‌های جنوبی کشور انجام گردد.

## نتیجه‌گیری

گونه گراتیسیموم (*Ocimum gratissimum* L.) بـه دلیـل دارا بودن ترکیبات فیتوشیمیایی ارزشمند از جمله گونه‌های مهـم جـنس ریحان به شمار می‌آید و اسانس و عصاره آن در صـنایع مختلـف بـه ویژه صنعت داروسازی مورد توجه فراوان است. نتایج تحقیق حاضـر نشان داد مقدار اسانس ژنوتیـپ ۲۹۶ تقریبـا دو برابـر ژنوتیـپ ۲۷۸ است که تحت تاثیر فصل برداشت قرار نمی‌گیرد. پروفایل شـیمیایی اسانس ژنوتیپ‌های ۲۷۸ و ۲۹۶ این گیاه دارویی شـامل ۵۰ ترکیـب مختلف متعلق به کلاس های شیمیایی مونوترپن‌های هیدروکربنـه و اکسیژن‌دار و سزکوئی‌ترپن‌های هیدروکربنـه و اکسـیژن‌دار و فنیـل پروپانوئیدی بود. ترکیب غالب اسانس ژنوتیپ ۲۷۸ شامل مونـوترپن اکسیژن‌دار تیمول بود. ترکیبات گاما- تـرپینن، پـی- سـیمن، آلفـا- ترپینن، میرسن، آلفا- توژن، ژرمـاکرین- دی، کـاریوفیلن (E) سـایز اجزای اصلی اسانس ایـن ژنوتیـپ بودنـد. ترکیـب دی‌هیـدرواوژنول ترکیب اصلی اسانس ژنوتیپ ۲۹۶ در ماه‌های خرداد و آبان شناسایی گردید و سایر ترکیبات اسانس آن شامل بتا- اسیمن (Z)، ژرماکرین- دی و کاریوفیلن (E) بود. فصل برداشت محصول روی اجزای اصـلی اسانس ژنوتیپ ۲۷۸ تاثیر داشـته اسـت در حالیکـه ترکیبـات اصـلی ژنوتیپ ۲۹۶ در دو فصل برداشت نسبتا ثابت بود. در مجموع، به نظر می‌رسد که دو ژنوتیپ مورد مطالعه در شـرایط اهـواز رشـد مناسـبی داشته و حاوی ترکیبات ارزشمند تیمول و اوژنول است که می‌تواند با اعمال روش های به زراعی چند برداشت در طول دوره رویش داشته باشد. با توجه به نیاز صـنایع مختلـف، پیشـنهاد مـی‌شـود تحقیقـات بیشتری جهت توسعه کشت آن در استان‌های جنـوبی کشـت انجـام شود.

## سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از صندوق حمایـت از پژوهشـگران و فنـاوران (INSF) جهت حمایت مالی از طرح، دانشگاه ایلام و دانشگاه شـهید چمران اهواز جهت همکاری در این پـروژه تشـکر و قـدردانی مـی نمایند.

## منابع


1- Adams R.P. 2007. Identification of essential Oil components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illiois.

2- Ananda A.K., Mohan M., Hiader S.Z., and Sharma A. 2011. Essential oil composition and antimicrobial activity of three *Ocimum* Species from uttarakhand (India). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3: 223-225.

3- Anand A., Jayaramaiah R.H., Beedkar S.D., Jashi R.S., Mulani F.A., Dholakia B.B., PanekarS.A., Gad W.N., and Thulasivam H.V. 2016. Comparative fanctional characterization of eugenol synthase from four species: Implicatious on eugenol accumulation. Biochimica et Biophysica Acta 8: 1539-1547.

4- Bassole I.H., Lamien- Meda A., Bayala B., Tirogo S., Franz C., Novak J., and Dicko M.H. 2010. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha*× *Piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. Molecules 15(11): 7825- 7839.

5- Benitez N.P., Melendez Leon E.M., and Stashenko E.E. 2009. Eugenol and methyl eugenol chemotypes of essential oil of species *Ocimum gratissimum* L. and *Ocimum campechianum* Mill. From Colombia. Journal of Chromatographics Science 47: 800- 83.

6- Burt S. 2014. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods: a review. International Journal of Food Mirobiology 94(3): 223- 253.

7- Cristiana M., Murbach F.M., Ortiz M., and Marques M.C. 2006. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology 105: 161–166**.**

8- Elhabazi K., Aboufatima R., Bensalah A., Collado A., Sanz J., Zyad A., and Chait A. 2012. Acute toxicity of essential oils of two Moracan endemic species: *Thymus broussonetii* and *Thymus leptobotrys*. Moroccan Journal of Biology 8-9: 29-33.

9- Ezekwesili C.N., Obiora K.A., and Ugwu O.P. 2004. Evaluation of antidiarrhoeal property of crude aqueous extracts of *Ocimum gratissimum* in rats, Biokemistri 16: 122-131.

10- Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., and Scheffer J.J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils, Flavour and Fragrance Journal 23: 213-226.

11- Gupta P., Yadav D.K., Siripurapu K.B., Palit G., and Maurya R. 2007. Constituents of *Ocimum sanctum* with antistress Activity. Journal of Natural Products 70: 1410-1416.

12- Hakkim F.L., Arivazhagan G., and Boopathy R. 2008. Antioxidant property of selected *Ocimum* species and their secondary metabolite content. Journal of Medicinal Plants Research 2(9): 250-257.

13- Hanif M.A., Al-Maskri A.Y., Al-Mahruqi Z.M.H., Al-Sabahi J.N., Al-Azkawi A., and. Al-Maskri M.Y. 2011. Analytical evolution of three wild growing Omani medicinal plants. Natural Product Communications 6: 1451-1454.

14- Janssen A.M., Scheffer J.J.C., Ntezurubanza L., and. Baerheim S.A. 1989. Antimicrobial activities of some *Ocimum* species grown in Rwanda. Journal of Ethnopharmacology 26: 57–63.
15- Jashi R.K., and Hoti S.L. 2014. Chemical composition of the essential oil of *Ocimum tenuiflorum* L. (Krishna Tulsi) from North West Karnataka, India.3: 99- 102. Available at http:// dx. doi. org/ 10.14719/pst.2014.1.3.52.
16- Javanmardi J., Khalighi A., Kashi A., Bais H.P., and Vivanco J.M. 2002**.** Chemical characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in local accessions and used in traditional medicines in Iran. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 5878-5883.
17- Kumars S. 2009. A Textbook of Plant Taxonomy. vol. 1. Compus Books International, New Delhi.
18- Kumar Pandey A., 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.
19- Labra M., Miele M., Ledda B., Grassi F., Mazzei M., and Sala F. 2008. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotype of *Ocimum basilicum* L. cultivars. Plant Science 167: 725-731.
20- Lawrence B.M. 1985. A review of the world production of essential oil. Perfumer and Fiavorist 10: 2- 16.
21- Mahmoudi Sourestani., M. 2018. Essential oil quantity and quality of two of spearmint (*Mentha spicata* L.) in different harvesting times. Journal of Horticultural Science 31: 825-835.
22- Makri O., and Kintzios S. 2008. *Ocimum* sp. (basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 13(3): 123-150
23- 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 Agriculture and Food Chemistry 44: 3926-3929.
24- Misaghi A., and Basti A.A. 2007. Effects of *Zataria multiflora* Bioss. Essential oil and nisin on *Bacillus cereus* ATTC11778. Food Control 18(9): 1043-1049.
25- Moghadam M., Omidbaigi R., Salimi A., and Naghavi M.R. 2013. Morphological variation of native species of Basil (*Ocimum* spp.) In Iran. Iranian Journal of Horticultural Science 44: 227-243. (In Persian with English abstract)
26- Momani Monfared M., Mahmoodi Sourestani M., Zolfaghari M., and Malekzadeh M. 2018. Evaluation of quantitative and qualitative characteristics of essential oil of some Basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions in Ahvaz weather conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 34(2): 286-297. (In Persian with English abstract)
27- Olugbade T.A., Ibranatu Kolipha-Kamara M., Christianah Abimbola Elusiyan CH., Osarugue Onawunmi Grace and Oguntuga Ogundaini A. 2017. Essential oil chemotypes of three *Ocimum* species found in Sierra Leone and Nigeria. Medicinal and Aromatic Plants 6: 2-6.
28- Omidbaigi R. 2007. Production and processing of medicinal plant. Vol 2 ed. 4. Astan Qudr Razavi Pub. Mashhad. (In Persian)
29- Oskuee R.K., Behravan J., and Ramezani M. 2011. Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of *Carum copticum* from Iran. Avicenna Journal of Phytomedicine 1: 83–90.
30- Paton A., Harley R.M., and Harley M.M. 1999. *Ocimum*-an overview of relationships and classification. In: Holm, Y. and Hiltuen, R. (eds 1). Basil: The genus *Ocimum*. Hawood Academic, Amsterdam.
31- Rabelo M., Souza E.P., Soares P.M.G., Miranda A.V., Matos F.J.A., and Criddle D.N. 2003. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) in mice. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 36: 521-524.
32- Saharkhiz M.J., Kamyab A.A., Kazerani N.K., Zomorodian K., Pakshir K., and Rahimi M.J. 2015. Chemical compositions and antimicrobial activities of *Ocimum sanctum* L. essential oils at different harvest stages. Jundishapur Journal of Microbiology 8: 1-7.
33- Salehi1 B., Prakash Mishra A., Shukla I., Sharifi‐Rad M., del Mar Contreras M., Segura‐Carretero A., |Fathi H., Nasri Nasrabadi N., Kobarfard F., and |Sharifi‐Rad J. 2018. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses, Phytotherapy Research 1-19.
34- Smith G.R., and Tripathy V. 2016. Seasonal variation in the essential oils extracted from leaves and inflorescence of different *Ocimum* species grown in vestern plains of India. Industrial Crops and Products 94: 52-64.
35- Wesolowska A., Kosecka D., and Jadczak D. 2012. Essential oil composition of three sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. Experimental Papers 58: 5-16.
36- Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Evans W.B., Ebelhar M.W., and Coker C. 2008. Yield and composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum sanctum* L. grown at four locations. Hortscience 43: 737-741.
37- Zoghbi M.D.G.B., Oliveira J., Andrade E.H.A., Trigo J.R., Fonseca R.C.M., and Rocha A.E.S. 2007. Variation in volatiles of *Ocimum campechianum* Mill. and *Ocimum gratissimum* L. cultivated in the north of brazil. Journal of Essential Oil Bearing Plants 10: 229-240.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 209-221
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۲۱-۲۰۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# The Comparison of the Essential Oil Percentage Content and Composition of African Basil (*Ocimum gratissimum* L.) in Spring and Fall Harvests

**F. Malekshahy[1]- A.A. Mehrabi[2*]- E. Tavakol[3]- Kh. Mehdi Khanlou[4]- V. Shariati Jouni[5]**

Received: 22-01-2020
Accepted: 17-11-2020

**Introduction:** Basil genus (*Ocimum*) contains 30 to 150 species which grown in tropical and subtropical regions of Asia, Africa, Central and South America and found as a wild plant in these areas. In India, around 25,000 ha is under cultivation of *Ocimum* spp., with an annual production of about 250–300 tonnes of essential oil. *Ocimum gratissimum* L., a dicotyledonous shrub plant, which belongs to the Lamiaceae family, stands out for the quality, quantity and chemical diversity of the essential oils. These oils have been used in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. Some of the essential oil compounds have antibacterial, insecticidal and antioxidant properties with high demand on the international market of the fine perfumery industry. It is also popularly used in herbal medicine for treating several diseases, such as upper respiratory tract infection, fever, cough, diarrhea and pneumonia. Being a short-duration economically viable medicinal and aromatic crop, clove basil has huge potential for large scale cultivation. Plant genetic has an important role in determining the type and amount of secondary metabolites of medicinal plants. Moreover, the recognition of species and genotypes with high genetic capability in the production of desired metabolites has been at the top of the plant breeding plans of medicinal plants. In addition, essential oil composition of plants may be affected by harvest time which is due to the impact of weather conditions on plant growth and development. The present study was aimed to evaluate the oil composition of two genotypes in two harvests.

**Materials and Methods:** The research was conducted in the research farm of the college of agriculture, shahid Chamran University, Ahvaz, Iran during 2019. Two valuable genotypes of *Ocimum gratissimum* L. (278 and 296), with two different essential oil profiles, were investigated in two harvests; spring and autumn seasons. The aboveground parts of the plants were collected on June and November and dried on shade at room temperature. The essential oils of the plants were extracted by water distillation through Clevenger apparatus and the quantity and quality of the essential oils were analyzed by GC and GC-MS.

**Results and Discussion:** The results of present study showed that the essential oil content of two genotypes was not affected by the harvest season while its amount was different in two genotypes. The essential oil content of genotype 296 was 2-fold of 278. According to the qualitative analysis of the essential oils, fifty compounds were identified in the essential oils of 278 and 296 genotypes. More than 98% of the identified compounds (in the essential oils of these two genotypes) were classified into five chemical classes; including hydrocarbon and oxygenated monoterpens, and hydrocarbon and oxygenated sesquiterpene and phenylpropanoids. The major constituent of the essential oil of genotype 278 was oxygenated monoterpene, thymol, on June (35.48 %) and November (45.85 %), which was not found in genotype 296. Gamma-terpinene was also significantly increased from June (13.15 %) to November (25.80 %). P-cymene (11.31-3.56 %), alpha- thujone (4.76-2.94 %), Germacrene D (3.73-2.76 %), caryophyllene E (3.66-1.51 %), myrcene (2.93-3.01 %), alpha-terpinene (2.63-3.38 %) and bourneol (2.28-0.71 %) were the remains of oil composition. Dihydro eugenol, which belongs to the chemical class of phenylpropanoids, was identified as the main essential oil components of genotype 296 which its amount was not affected by the harvest time. The other oil constituents were Beta (Z)-Ocimene (11.89-3.40 %), Germacrene D (3.58-2.80 %), and caryophyllene E (0.52-2.68 %).

**Conclusion:** Terpenoids such as thymol are synthesized via the mevalonic acid pathway, and phenylpropanoid compounds such as dihydroeugenol and eugenol are synthesized via the shikimic acid pathway. The metabolite diversity across different species could be explained by the differential gene expression pattern. According to the results of the present study, thymol was identified as the main oil components of genotype 278.

1- Ph.D. Graduate, Department of Agronomy and Plant Breeding, Ilam University, Ilam, Iran
2- Associate Professor, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran and Associate Professor, Department of Biotechnology, Research Institute of Forests and Rangelands, AREEO, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: a.mehrabi@rifr-ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Shiraz University
4- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Shahid Chamran University of Ahvaz
5- Assistant Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Karaj, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2021.61739.0

This may be due to the increased expression of mevalonate enzymes. The monoterpene was replaced by phenylpropanoid; dihydrogenugenol, in the oil of genotype 296 which might be due to more expression of the enzymes of the phenylpropanoid pathway. In the other hand, Thymol, P-cymene and gamma-terpinene in genotype 278 varied significantly in different harvesting times, indicating the effect of temperature on the activity of enzymes involved in the synthesis of essential oil components. On the contrary, the amount of dihydrogenugenol in genotype 278 on June and November is not affected by the environmental conditions in two seasons. With regard to the conclusions to the proper growth of genotype 278 and 296, as well several harvests annually, essential oil content and thymol and dihydrogenugenol, therefore, it is suggested that further research should be carried out for developing plant cultivation in Khuzestan and southern provinces which is not suitable for basil growth.

**Keywords:** Basil, Essential oil, Eugenol, Genotype, Thymol

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 223-234
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۴-۲۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# اثر تنش شوری بر خصوصیات ریشه گوجه‌فرنگی ('Saint Pierre') و عملکرد آن تحت مدیریت زمان آبیاری

عطیه عبدلی[1]- جواد رمضانی مقدم[2*]- یاسر حسینی[3]- محمدرضا نیک پور[4]- هادی دهقان[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۱

## چکیده

از مهم‌ترین مشکلات در اراضی تحت کشت ایران می‌توان به وضعیت نامناسب کیفی و کمی منابع آب در سطح کشور اشاره کرد. در این تحقیق، اثر مقادیر مختلف شوری آب آبیاری بر عملکرد و خصوصیات ریشه گوجه‌فرنگی با مدیریت‌های مختلف زمان آبیاری در شهرستان اردبیل مورد بررسی قرار گرفت. تیمارهای آزمایش شامل شوری آب آبیاری (در چهار سطح ۱/۵، ۲/۵، ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر) و زمان اعمال آبیاری (آبیاری در سه زمان، به‌ترتیب ۴۰، ۵۰ و ۶۵ درصد تخلیه مجاز رطوبتی) در چهار تکرار اجرا شدند. نتایج این تحقیق نشان داد شوری آب آبیاری دارای اثر معنی‌دار ($p<0.01$) بر وزن، قطر و حجم ریشه، میزان تبخیر و تعرق، زه‌آب خروجی و عملکرد گوجه‌فرنگی می‌باشد. همچنین تیمارهای شوری آب‌آبیاری ۲/۵ و ۷ دسی زیمنس بر متر دارای بیشنه و کمینه عملکرد گوجه‌فرنگی به‌ترتیب برابر ۱۱۴/۹ و ۳۷/۵۸ گرم بودند. از طرفی، افزایش شوری آب‌آبیاری از ۱/۵ به ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر و افزایش تخلیه مجاز رطوبتی از ۴۰ به ۵۰ درصد تفاوت معنی‌داری بر عملکرد گوجه فرنگی نداشت. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد استفاده از آب‌های دارای شوری قابل قبول، می‌تواند یکی از راهکارهای جبران و کاهش مشکلات منابع آب موجود باشد، که البته این امر باید با رعایت مدیریت شوری و آبشویی خاک همراه باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تخلیه مجاز رطوبتی، تنش رطوبتی، کارآیی مصرف آب، کیفیت آب

## مقدمه

یکی از بخش‌های اصلی مصرف آب در ایران (با سهم حدود ۹۰ درصد) مربوط به مصارف کشاورزی می‌باشد. از مهم‌ترین مشکلات آبی در بخش کشاورزی می‌توان به کمبود منابع آب و افزایش شوری منابع آبی اشاره کرد. این دو عامل به‌ترتیب می‌توانند موجب تنش‌های آبی و شوری در گیاهان و شوری خاک و در نهایت منجر به کاهش عملکرد (کمی و کیفی) یا از بین رفتن گیاهان شوند (۷، ۹ و ۱۶).

با توجه به اهمیت مباحث تنش آبی و شوری، مطالعات زیادی در سال‌های اخیر (در ایران و سایر نقاط دنیا) در رابطه با اثر شوری آب آبیاری و کم آبی بر عملکرد گیاهان زراعی، یافتن راهکارهای کاهش اثرات منفی آن بر روند رشد گیاهان و انتخاب مناسب‌ترین ترکیب شوری و تنش آبی صورت گرفته است (۵، ۱۱ و ۲۲). نتایج بررسی پژوهشگران نشان داده است که شوری آب‌آبیاری از مهم‌ترین عوامل موثر بر کاهش عملکرد گیاه است. افزایش شوری آب آبیاری موجب کاهش عملکرد توده و طول ساقه، مقادیر یون‌های منیزیم، کلسیم و پتاسیم می‌شود. البته برخی گیاهان با کمک جذب یون‌ها در اندام خود، نسبت به اثرات منفی شوری مقاومت می‌کنند (۱۳).

بر اساس تحقیقات، تنش رطوبتی در خیلی از موارد موجب کاهش معنی‌دار طول ریشه، وزن خشک گیاه و طول ساقه شده است. اما نکته مهم میزان تنش رطوبتی است که به گیاه تحمیل می‌شود، که بر میزان رشد و عملکرد محصول موثر است. نتایج برخی از تحقیقات نشان داده است که در مقادیر تنش رطوبتی کم، مانند ۱۰ و ۲۰ درصد (به‌ترتیب تأمین ۹۰ و ۸۰ درصد نیاز آبی گیاه) ممکن است مقادیر عملکرد به دست آمده کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار آبیاری کامل نداشته باشند (۹، ۱۶ و ۲۴). شاهرخ نیا و همکاران (۲۶) در پژوهشی به بررسی اثر تنش رطوبتی بر عملکرد و کارآیی مصرف آب

۱، ۲ و ۴- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد آبیاری و زهکشی و استادیاران، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: Email: j_ramezani@uma.ac.ir)
۳- دانشیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی
۵- استادیار، گروه علوم و مهندسی آب، مرکز آموزش عالی کاشمر

DOI: 10.22067/jhs.2021.61809.0

گوجه‌فرنگی پرداختند. نتایج این مطالعه بیانگر کاهش معنی‌دار عملکرد و اجزای عملکرد گوجه‌فرنگی در اثر افزایش تنش رطوبتی بود. همچنین بیشینه میزان کارآیی مصرف آب در تیمارهای مختلف آبیاری (۶۰ تا ۱۲۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه) مربوط به تیمار ۸۰ درصد تأمین نیاز آبی گیاه بود.

امروزه در کشاورزی، بحث استفاده از آب شور در کنار آب شیرین، به‌دلیل کاهش اثر اسمزی آب شور در حال بررسی است. با کمک این روش می‌توان در مصرف آب شیرین صرفه‌جویی نمود، از طرفی می توان بخش قابل توجهی از آب آبیاری را از طریق آب شور تأمین نمود و اثرات منفی وارده به گیاه در اثر پتانسیل اسمزی را کاهش داد (۱۰ و ۱۶).

مطالعات اردلانی و همکاران (۳) نشان داد که شوری از عوامل مهم و تأثیرگذار بر روی رشد و عملکرد گوجه‌فرنگی است. آن‌ها تحقیقی را به‌منظور بررسی اثر شوری آب آبیاری بر عملکرد گوجه فرنگی انجام داد، نتایج این تحقیق بیانگر کاهش ماده خشک و عملکرد نسبی گیاه در اثر افزایش شوری آب آبیاری بود. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف مناسب کودهای غذایی (بخصوص کود نیتروژن) می‌تواند باعث کاهش اثرات مخرب شوری آب آبیاری بر عملکرد گوجه‌فرنگی شود.

رمضانی مقدم و همکاران (۲۴) در مطالعه‌ای به بررسی اثر شوری آب آبیاری بر عملکرد گوجه گیلاسی پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری دارای تاثیر معنی‌دار در کاهش عملکرد، اجزای عملکرد و کارآیی مصرف آب گوجه گیلاسی است، به‌طوری که استفاده از آب شور (۷ دسی‌زیمنس بر متر) موجب کاهش ۱۹/۲ درصدی کارآیی مصرف آب نسبت به تیمار شاهد (شوری ۱ دسی زیمنس بر متر) شد. همچنین با افزایش شوری از ۴ به ۷ دسی‌زیمنس بر متر، میزان کل تبخیر و تعرق گیاه و عملکرد به ترتیب ۱۰ و ۲۷ درصد کاهش یافت.

حسینی و همکاران (۱۵) در تحقیقی به بررسی اثر توأمان شوری و تنش‌آبی بر گیاه گوجه‌فرنگی و جذب آب توسط آن پرداختند. نتایج این بررسی بیانگر این بود که با افزایش میزان تنش خشکی و شوری، میزان جذب آب توسط گیاه به صورت غیرخطی کاهش می یابد. همچنین حسینی و همکاران (۱۴) گزارش دادند که افزایش مقدار نمک در آب آبیاری در شرایط تنش خشکی باعث اثر تجمعی پتانسیل اسمزی و ماتریک خاک می شود. این امر باعث کاهش جذب آب قابل استفاده گیاه می شود. همچنین با کاهش میزان مکش خاک، حساسیت گیاه نسبت به شوری کم می‌شود که این امر در ادامه حیات گیاه حائز اهمیت است. از طرفی بر اساس نتایج این تحقیق، نقش پتانسیل ماتریک در جذب آب توسط ریشه بیشتر از پتانسیل اسمز محلول خاک بود.

نتایج بسیاری از تحقیقات نیز بیانگر این بوده است که می‌توان با اعمال کم‌آبیاری یا تنش آبی به گیاه ضمن صرفه‌جویی در میزان مصرف آب، شاهد کاهش ناچیز در عملکرد گیاه بود که در نهایت موجب سود اقتصادی خواهد شد. ضمناً می توان با استفاده از آب صرفه‌جویی شده، مساحت اراضی تحت کشت را افزایش داد (۲۳ و ۲۴). نتایج تحقیقات حسن‌لی و همکاران (۱۲) بر روی اثرات شوری آب آبیاری (سیستم قطره‌ای)، بیانگر ۱۰ درصد کاهش عملکرد گیاه ذرت به‌ازای هر یک دسی‌زیمنس بر متر افزایش شوری آب آبیاری بود.

از طرفی نتایج تحقیقات نشان داده است که معمولاً شوری در اندام‌های هوایی نسبت به وزن خشک ریشه اثر مخرب بیشتری دارد. همچنین با افزایش معنی‌دار یون سدیم و کلر (در اندام‌های هوایی و ریشه) در اثر شوری آب آبیاری ، رشد گیاه (در اثر تجمع یون‌ها در اندام‌های گیاه) کاهش می‌یابد. البته در اغلب موارد مشاهده شده است با افزایش شوری آب آبیاری، مقادیر برخی یون‌ها (منیزیم، پتاسیم و کلسیم) کاهش یافته‌اند (۱۳).

متأسفانه در دهه‌های اخیر، دشت اردبیل مانند اکثر مناطق کشور ایران دچار افت کیفی و کمی (آب زیرزمینی) شده است، که علت اصلی آن برداشت بیش از حد مجاز از چاه‌ها، کاهش میزان تغذیه آب زیرزمینی و ورود انواع آلاینده‌ها به آب‌های سطحی و زیرزمینی بوده است (۶). با توجه به مطالب بیان شده، این پژوهش با هدف بررسی اثر شوری آب آبیاری بر خصوصیات ریشه و میزان عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی در مدیریت‌های مختلف زمان آبیاری در شهرستان اردبیل انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه، سال ۱۳۹۵ در گلخانه شماره دو دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. شهرستان اردبیل دارای طول و عرض جغرافیایی به‌ترتیب برابر ۴۸ درجه و ۱۷ دقیقه و ۳۸ درجه و ۱۲ دقیقه می‌باشد. بر اساس آمار هواشناسی (۳۰ ساله) متوسط بارندگی سالانه ۲۹۱ میلی‌متر است که بیش‌ترین مقدار آن مربوط به اوایل زمستان تا اواخر بهار می‌باشد. بیشینه دمای ثبت شده برابر ۴۰/۴ درجه (مرداد ماه) و کمینه دمای آن برابر ۳۳/۸- درجه سانتی‌گراد (بهمن ماه) می‌باشد. همچنین میانگین تبخیر سالانه ۱۱۸۶ میلی‌متر و رطوبت نسبی حدود ۷۱ درصد است (۱).

اطلاعات هواشناسی شهرستان اردبیل در دوره زمانی مورد مطالعه در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱- مقادیر پارامترهای مهم هواشناسی در دوره زمانی مورد مطالعه (۱۳۹۵)
Table 1- The values of main climatic parameters during the studied time period (2016)

| ماه Month | دمای بیشینه Maximum temperature (°C) | دمای کمینه Minimum emperature (°C) | بارندگی Precipitation (mm) | رطوبت نسبی Relative humidity (%) | ساعات آفتابی Sunny hours (hrs.) |
|---|---|---|---|---|---|
| مرداد August | 27.2 | 13 | 1 | 57.1 | 10.8 |
| شهریور September | 24.2 | 11 | 6.4 | 67.9 | 9.13 |
| مهر October | 17.2 | 6 | 28.1 | 79.9 | 6.3 |
| آبان November | 12.2 | 0.7 | 15.2 | 69.5 | 6.26 |

جدول ۲- مشخصات فیزیکوشیمیایی خاک و آب استفاده شده در آزمایش
Table 2- Physiochemical characteristics of soil and water used in this experiment

| خاک Soil | | | | | | | | | | | آب Water | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| بافت Texture | رس Clay (%) | سیلت Silt (%) | شن Sand (%) | رطوبت ظرفیت زراعی FC (%) | درصد کربن آلی Organic Carbon (%) | سدیم Na ($meq.l^{-1}$) | بی کربنات $HCO_3$ ($meq.l^{-1}$) | کلسیم + منیزیم Ca+Mg ($meq.l^{-1}$) | pH | هدایت الکتریکی EC (dS/m) | هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$) | pH | سدیم Na ($meq.l^{-1}$) |
| لومی رسی clay loam | 30 | 36 | 34 | 33 | 3.51 | 8.8 | 5 | 8.8 | 7.65 | 2.14 | 646 | 6.86 | 4.2 |

همچنین برخی از مشخصات فیزیکی و شیمیایی آب و خاک مورد مطالعه در جدول ۲ آورده شده است. بر اساس اطلاعات جدول ۲ نوع بافت خاک مورد بررسی در این مطالعه لومی رسی می‌باشد. مقادیر شوری آب و خاک مورد مطالعه به‌ترتیب برابر ۰/۶۴۶ و ۲/۱۴۰ دسی زیمنس بر متر بود. همچنین مقدار رطوبت حجمی در نقطه ظرفیت زراعی برابر ۳۳ درصد بود.

به‌منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف شوری آب آبیاری (در زمان های مختلف آبیاری) بر خصوصیات ریشه و عملکرد گیاه گوجه فرنگی (رقم 'Saint Pierre')، این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار (در شرایط گلخانه‌ای) انجام شد. تیمارهای این آزمایش شامل شوری آب آبیاری در چهار سطح ($S_1$، $S_2$، $S_3$ و $S_4$: به‌ترتیب ۱/۵، ۲/۵، ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر) و مدیریت زمان آبیاری در سه سطح ($I_1$، $I_2$ و $I_3$: آبیاری در سه زمان، به‌ترتیب ۴۰، ۵۰ و ۶۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری) بودند.

گلدان‌های مورد استفاده در این تحقیق به‌شکل مخروط ناقص با ارتفاع ۲۷ سانتی‌متر، قطر دهانه ۲۶ سانتی‌متر و قطر قاعده ۱۹ سانتی‌متر بودند. برای پر کردن گلدان‌ها ابتدا مقدار ۱/۵ کیلوگرم شن دانه‌بندی شده در کف گلدان (برای زهکشی بهتر) سپس مقدار ۱۰ کیلوگرم خاک الک شده با بافت لوم-رسی در یک مرحله و در نهایت مقدار ۱/۵ کیلوگرم شن بر روی سطح خاک برای کاهش تبخیر از سطح خاک ریخته شد (۱).

در این تحقیق، برای کاشت گیاه گوجه‌فرنگی از روش غیر مستقیم (نشائی) استفاده شد. در این راستا، ابتدا بذر گیاه گوجه‌فرنگی بر روی سینی‌های مخصوص کشت نشا بر روی پیت ماس کاشته شد. سپس در مرحله سه الی چهار برگی به گلدان‌های آماده کاشت انتقال داده شدند. بعد از کاشت نشاها در گلدان‌های آماده شده، به‌منظور تثبیت نشاها در گلدان‌ها به‌مدت یک ماه با آب غیر شور آبیاری شدند تا هیچ‌گونه تنشی بر نشاها وارد نشود.

در این تحقیق، برای اندازه‌گیری تبخیر و تعرق روزانه از ترازوی دیجیتالی با دقت یک گرم استفاده شد. برای انجام این کار در طول دوره انجام آزمایش، هر روز صبح گلدان‌ها توسط ترازوی دیجیتالی وزن می‌شد. همچنین جهت تعیین رطوبت روزانه گلدان‌ها، از دستگاه رطوبت‌سنج PMS-714 (بعد از کالیبره شدن) استفاده شد (۱۷).

در این آزمایش، آبیاری زمانی انجام می‌شد که رطوبت‌سنج PMS-714 اعداد مربوط به تنش‌های ۴۰، ۵۰ و ۶۵ درصد تخلیه آب قابل دسترس ( به‌ترتیب برابر ۲۵/۶، ۲۴/۳ و ۲۳ درصد رطوبت

حجمی) را نشان می‌داد. بنا براین دور آبیاری مقدار ثابتی نبود.

در این تحقیق، جهت محاسبه میزان تبخیر و تعرق از رابطه بیلان آبی استفاده شد (رابطه ۱).

$$I = (D_d + R_O + ET_a) \pm \Delta S \qquad (۱)$$

که در رابطه (۱)، I : مقدار آب آبیاری، $D_d$: مقدار زه آب خروجی، $R_O$: مقدار رواناب خروجی، $ET_a$: تبخیر و تعرق واقعی گیاه و $\Delta S$: تغییرات ذخیره رطوبتی خاک است.

همچنین با استفاده از رابطه پیشنهادی فائو، مقدار شاخص کارآیی مصرف آب محاسبه شد (رابطه ۲).

$$WUE=(Yield/ET) \qquad (۲)$$

در رابطه (۲)، WUE: شاخص کارآیی مصرف آب ($Kg.ha^{-1}.mm^{-1}$)، Yield: عملکرد ($Kg.ha^{-1}$) و ET: مقدار تبخیر و تعرق واقعی گیاه (mm) می‌باشند (۱۶).

در این مطالعه، رابطه بین کاهش نسبی عملکرد و کاهش نسبی تبخیر و تعرق گوجه‌فرنگی نیز مورد بررسی قرار گرفت و مقدار ضریب واکنش عملکرد گوجه‌فرنگی نسبت به تنش رطوبتی ($K_Y$) از رابطه (۳) به‌دست آمد.

$$K_Y= (1-(Y/Y_m))/(1-(ET/ET_m))) \qquad (۳)$$

در رابطه (۳)، Y و ET: به‌ترتیب مقدار عملکرد و تبخیر و تعرق واقعی گوجه‌فرنگی و $Y_m$ و $ET_m$: به‌ترتیب بیشینه مقدار عملکرد و تبخیر و تعرق گوجه‌فرنگی می‌باشند (۸).

در این آزمایش برای تعیین عملکرد و اجزای عملکرد که شامل تعداد میوه، وزن تر میوه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی، طول ریشه، حجم ریشه، قطر ریشه و تعداد شکوفه می‌باشد به‌صورت زیر عمل شد. زمانی که اعمال تنش‌ها به پایان رسید ابتدا میزان محصول هر تیمار به تفکیک میوه‌های رسیده و نرسیده توزین شده و تعداد هر کدام به‌صورت جداگانه ثبت گردیدند. همچنین صفات مختلف ریشه (طول، قطر و وزن) در هر یک از تیمارها با کمک کولیس و ترازو اندازه‌گیری شدند. شایان ذکر است برای به‌دست آوردن حجم ریشه، مقدار ۳۰۰ cc آب در استوانه مدرج یک لیتری ریخته شده و به‌وسیله آن حجم ریشه‌ها محاسبه گردیدند. از طرفی برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه، ریشه‌ها را به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در داخل دستگاه آون گذاشته و بعد از خشک شدن توزین شدند (۱).

در این پژوهش، به‌منظور بررسی آماری تأثیر شوری آب آبیاری و مدیریت زمان آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد گوجه‌فرنگی و کارآیی مصرف آب از نرم‌افزار MSTATC (با آزمون میانگین دانکن) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

## نتایج و بحث

### بررسی نتایج آماری

بر اساس نتایج این تحقیق، مقادیر شوری آب آبیاری دارای تأثیر معنی‌داری (*p<0.01*) بر روی وزن تر و خشک ریشه، قطر و حجم ریشه، مجموع تبخیر و تعرق، مجموع آب‌مصرفی، مجموع زه‌آب خروجی، عملکرد در بوته و تعداد شکوفه بودند (جدول ۳). در جدول (۳)، آنالیز واریانس میانگین مقادیر مربعات صفات مورد بررسی تحت اثر شوری آب آبیاری و زمان آبیاری ارایه شده است.

مطابق نتایج جدول (۳)، مقادیر شوری آب آبیاری دارای تأثیر معنی‌دار (*p<0.05*) بر روی تعداد میوه نرسیده بود و با افزایش شوری دارای رابطه مستقیم بود. نتایج تعداد زیادی از تحقیقات بیانگر تأثیر معنی‌دار کاهشی شوری آب آبیاری بر عملکرد و اجزای عملکرد محصول بوده است (۱۶ و ۲۱). البته نحوه این تأثیر، در محدوده‌های پایین شوری آب آبیاری ، در برخی موارد بدون‌تأثیر معنی‌دار یا حتی موجب افزایش عملکرد و اجزای عملکرد گزارش شده است (۲۲). همچنین مطابق نتایج جدول ۳ اثر نحوه مدیریت زمان آبیاری فقط بر روی قطر ریشه (*p<0.05*) و وزن میوه رسیده (*p<0.01*) معنی‌دار بود. البته اثر متقابل دو عامل شوری آب آبیاری و زمان آبیاری بر صفات مورد مطالعه، فقط بر تعداد میوه رسیده و تعداد شکوفه گوجه فرنگی، آن‌هم در سطح پنج‌درصد، معنی‌دار بودند (جدول ۳). در این مطالعه جهت بررسی میانگین صفات مورد مطالعه تحت اثر مقادیر مختلف شوری آب آبیاری و مدیریت زمان آبیاری از آزمون دانکن استفاده شد (۱).

در ادامه جهت اختصار، فقط تعدادی از پارامترها که اثرات شوری آب آبیاری در آن‌ها بارزتر بودند در ادامه مورد بررسی قرار گرفتند.

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود بیشترین مقادیر وزن تر و خشک ریشه (در گلدان) به‌ترتیب برابر ۲۶/۱۷ و ۶/۳ گرم مربوط به تیمار $S_2$ بودند. البته، تفاوت مقادیر وزن ریشه در تیمار $S_2$ و $S_1$ (به طور میانگین ۲۷/۵ درصد) خیلی کمتر از تفاوت وزن ریشه بین این دو تیمار با تیمارهای $S_3$ و $S_4$ (دارای میانگین تفاوت ۵۰ تا ۷۵ درصد) بود. به‌طوری که افزایش شوری بیش از مقدار $S_2$ موجب کاهش ۶۸ تا ۸۴ درصدی مقادیر وزن تر و خشک ریشه شد (شکل ۱). از طرفی افزایش شوری تا ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر نه تنها موجب کاهش وزن ریشه (خشک و تر) نشده بلکه باعث افزایش آن هم شده است.

جدول ۳- تجزیه واریانس خصوصیات اندازه‌گیری شده ریشه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre تحت تاثیر مدیریت زمان آبیاری و تنش شوری
Table 3- ANOVA forthe root characteristics of tomato cv. Saint Pierre affected by water and salinity stresses

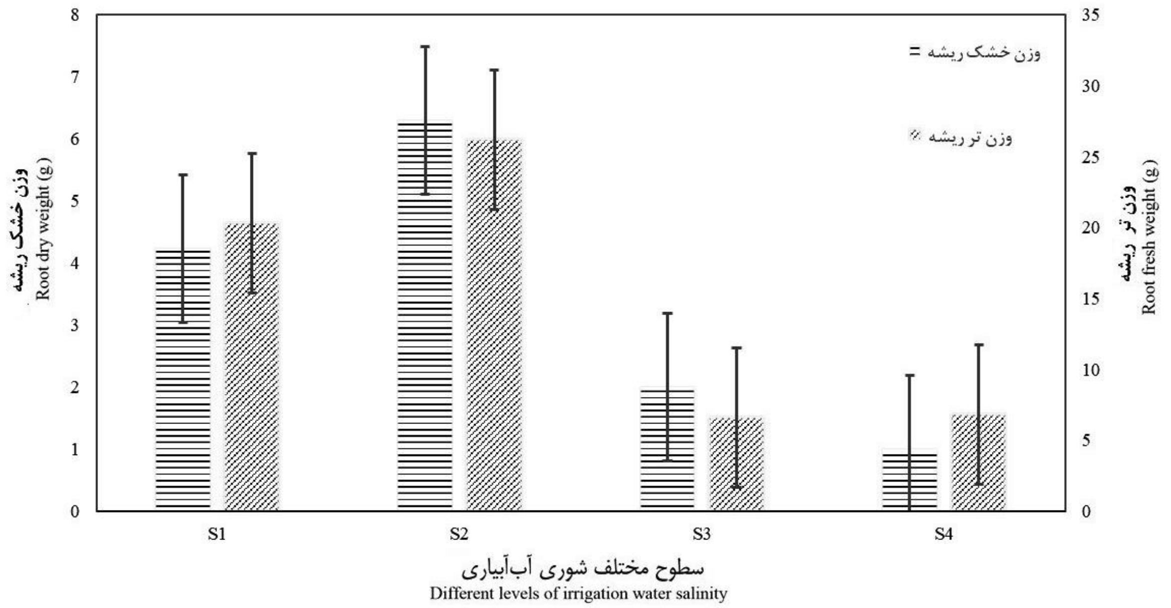
| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی Df | وزن تر ریشه Root fresh weight | وزن خشک ریشه Root dry weight | قطر ریشه Root diameter | حجم ریشه Volume of root | طول ریشه Root length | تعداد میوه رسیده Number of ripe fruit | تعداد میوه نرسیده Number of unripe fruit | تعداد شکوفه Number of flowers |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 3 | 2.74 | 0.785 | 0.003 | 4.58 | 169 | 0.41 | 1.17 | 16.85 |
| زمان آبیاری (I) Irrigation time | 2 | 20.58 ns | 1.18 ns | 1.11* | 24.93 ns | 35.8 ns | 0.69 ns | 3.56 ns | 21.33 ns |
| شوری آب (S) Water salinity | 3 | 1162.7** | 47.38** | 2.66** | 55.75** | 7.09 ns | 0.594 ns | 7.67* | 168.9** |
| آبیاری×شوری I×S | 6 | 11 ns | 1.46 ns | 0.13 ns | 3.85 ns | 56.1 ns | 0.622* | 3.65 ns | 48.06* |
| خطا Error | 33 | 25.2 | 1.72 | 0.254 | 17.46 | 52.08 | 0.24 | 2.04 | 18.69 |

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس خصوصیات اندازه‌گیری شده ریشه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre تحت تاثیر مدیریت زمان آبیاری و تنش شوری
Continue Table 3- ANOVA for the root characteristics of tomato cv. Saint Pierre affected by water and salinity stresses

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی Df | وزن میوه رسیده Ripe fruit weight | عملکرد Yield | مجموع تبخیر و تعرق Total of evapotranspiration | مجموع زه‌آب-خروجی Total of water drain | آب-مصرفی Water use | کارآیی مصرف آب Water use efficiency |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 3 | 1550 | 2280.8 | 1.36 | 2.261 | 1.35 | 32.09 |
| زمان آبیاری (I) Irrigation time | 2 | 3372** | ns 152.13 | 0.033 ns | 2.852 ns | 1.35 ns | 7.39 ns |
| شوری آب (S) Water salinity | 3 | 7791** | 17223** | 108.3** | 36.48** | 146.5** | 23.31 ns |
| آبیاری×شوری I×S | 6 | 1020 ns | 802.8 ns | 1.39 ns | 1.090 ns | 1.83 ns | 19.38 ns |
| خطا Error | 33 | 518 | 684.08 | 1.38 | 1.109 | 1.62 | 13.76 |

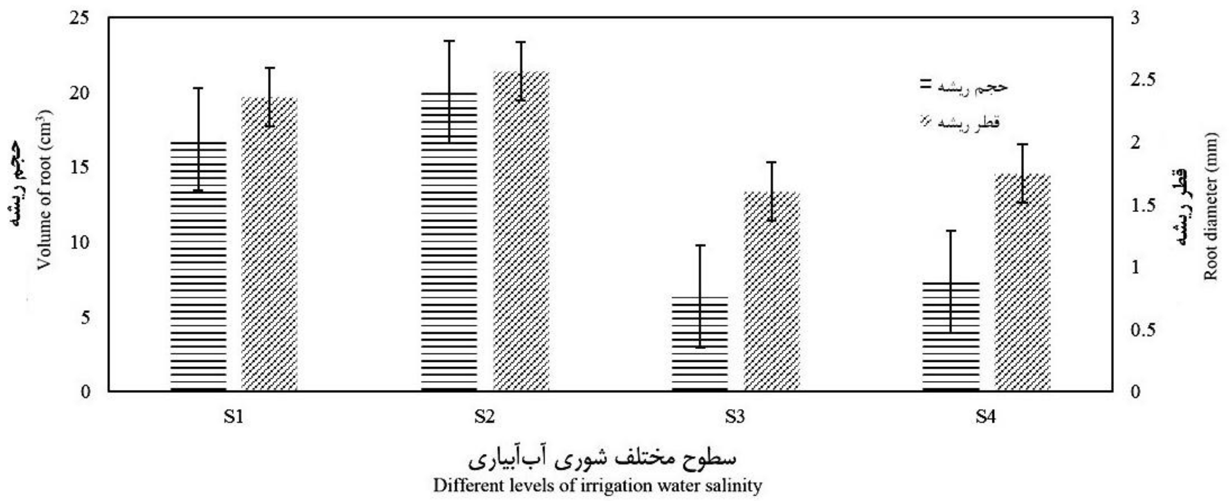
*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد و بدون اختلاف معنی‌دار.
ns, * and **: Non-significant , significant p $\leq$0.05 and p $\leq$ 0.01, respectively.

علت این امر می‌تواند نزدیک بودن این مقدار شوری (۲/۵ دسی زیمنس بر متر) به شوری آستانه کاهش عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی باشد. اما با افزایش شوری به بالای مقادیر ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر، وزن ریشه (خشک و تر) به‌طور معنی‌داری (در سطح یک‌درصد) کاهش یافت. همچنین علت کاهش وزن ریشه در مقادیر غلظت نمک بالا می‌تواند بخاطر تجمع نمک (شامل پتاسیم، سدیم و ...) در اندام های مختلف گیاه از جمله ریشه باشد (۱۳). نتایج تحقیقات مومن‌پور و همکاران (۲۰) نشان داد مقادیر صفات گیاهی مورد بررسی در سطوح شوری پایین آب آبیاری افزایش و در ادامه در مقادیر شوری آب آبیاری بالا، کاهش یافت. همچنین نتایج تحقیقات اورس و سوارز (۲۲) نیز موید این روند تغییرات بود، به‌طوری با افزایش شوری تا ۹ دسی‌زیمنس بر متر، وزن ریشه افزایش و بعد از آن کاهش یافت. از طرفی پیری و همکاران (۲۳) گزارش دادند که شوری آب آبیاری ۲ و ۵ دسی‌زیمنس بر متر دارای تفاوت معنی‌داری بر روی عملکرد نبودند.




**شکل ۱- مقایسه وزن تر و خشک ریشه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre در سطوح مختلف شوری**

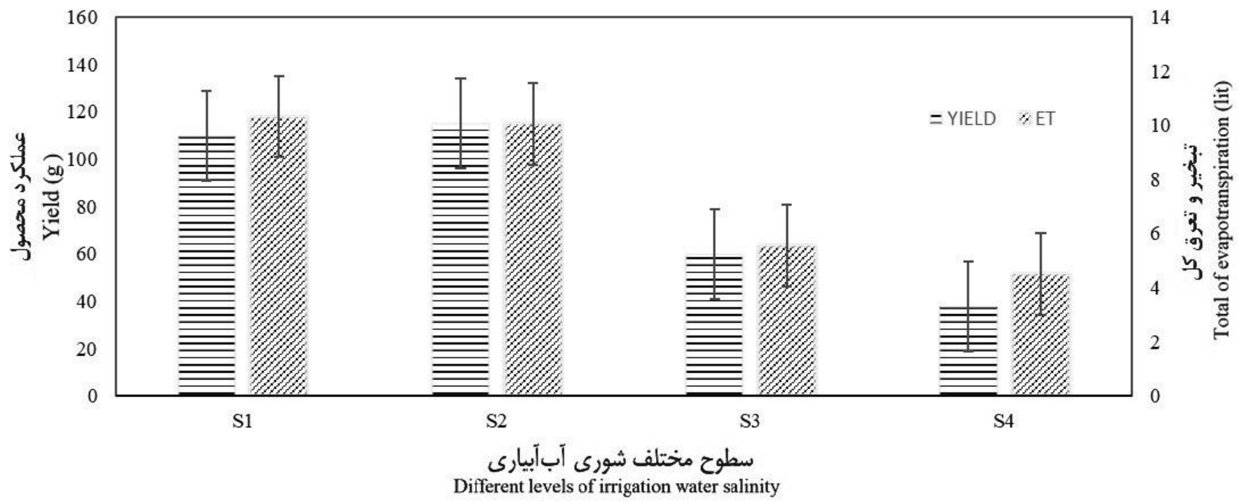
**Figure 1- Comparison of fresh and dry weight of tomato cv. Saint Pierre root in different levels of salinity**




**شکل ۲- مقایسه حجم و قطر ریشه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre در سطوح مختلف شوری**

**Figure 2- Comparison of volume and diameter of tomato cv. Saint Pierre root in different levels of salinity**

نتایج بیان‌شده در مورد وزن ریشه به‌طور مشابه در مورد قطر و حجم ریشه نیز مشاهده شد (شکل ۲). نتایج به‌دست آمده از شکل ۲ نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین اثر دو تیمار $S_1$ و $S_2$ بر قطر و حجم ریشه وجود ندارد. اما با افزایش شوری از ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر، قطر و حجم ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بر اساس نتایج این تحقیق، کمترین مقدار قطر ریشه ۱/۶ میلی‌متر مربوط به تیمار $S_3$ بود. همچنین مقادیر قطر ریشه در شوری‌های ۴ و ۷ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۳۳ و ۲۶ درصد نسبت به تیمار بدون تنش شوری ($S_1$) کاهش داشتند. از طرفی کمترین و بیشترین مقادیر حجم ریشه به ترتیب برابر ۶/۳۳ و ۲۰ سانتی‌متر مکعب در تیمارهای $S_3$ و $S_2$ مشاهده شدند. همچنین قابل ذکر است که بین اثر تیمار $S_3$ و $S_4$ بر قطر و حجم ریشه گوجه‌فرنگی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.




**شکل ۳- مقایسه عملکرد و تبخیر و تعرق کل در گیاه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre در سطوح مختلف شوری**

**Figure 3- Comparison of yield and evapotranspiration of tomato cv. Saint Pierre in different levels of salinity**

برخی از محققان علت اثر کاهشی رشد را در استفاده از آب‌های با هدایت الکتریکی بالا به این‌صورت ذکر کرده‌اند که وجود آب شور در خاک، موجب بر هم زدن تعادل جذب عناصر غذایی، کاهش پتانسیل آب در خاک (به‌خاطر اثر اسمزی آب شور) و اثر سوء بر آنزیم‌های موثر در فتوسنتز گیاه می‌شود (۱۶).

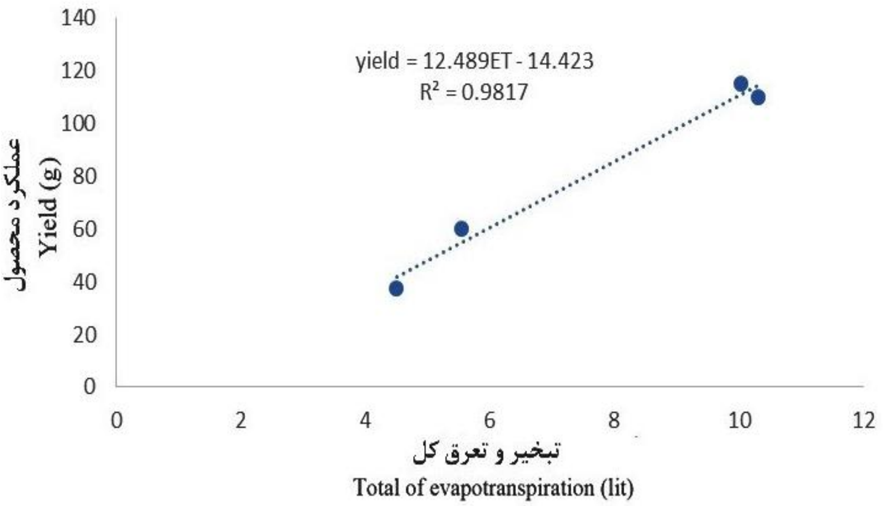
نتایج مطالعات بسیاری از پژوهشگران بیانگر کاهش میزان نفوذ ریشه در اعماق خاک تحت شرایط تنش و در نتیجه کاهش وزن خشک ریشه می‌باشد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (۲۲). تحقیقات فرهادی و همکاران (۹) نیز نشان داد تنش شوری ۱۸۰ میلی‌مولاری موجب کاهش طول و وزن خشک ریشه به‌ترتیب برابر ۱۲ و ۴۸/۵ درصد نسبت به تیمار بدون تنش شوری شد.

در شکل ۳ تأثیر تیمار شوری بر عملکرد در بوته و تبخیر و تعرق گوجه‌فرنگی ارایه شده است. مطابق نتایج این تحقیق، به‌طور نمونه در مورد عملکرد گوجه‌فرنگی در هر بوته، بیشینه مقدار آن در تیمار $S_2$ مشاهده شد که دارای وزن ۱۱۴/۹ گرم بود. همچنین بیشترین درصد کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی در هر بوته نسبت به تیمار شاهد (۶۶٪) مربوط به تیمار $S_4$ بود.

نتایج تحقیقات جمالی و همکاران (۱۶) نیز بیانگر اثر کاهشی و معنی‌دار شوری آب آبیاری (در سطح یک‌درصد) بر مقادیر عملکرد، وزن خشک و تعداد میوه فلفل دلمه‌ای بود. مطابق شکل ۳ نحوه اثر تیمار شوری بر مقادیر تبخیر و تعرق گوجه فرنگی مشابه عملکرد گوجه‌فرنگی بود، البته در حقیقت با کاهش تبخیر و تعرق گیاه میزان عملکرد نیز کاهش یافته است. نتایج بررسی بسیاری از محققین موید کاهش عملکرد در اثر افزایش شوری آب آبیاری می‌باشد (۲۱، ۱۳ و ۲۵). میزان تبخیر و تعرق گیاه بر میزان تولید (عملکرد محصول) دارای اثر مستقیم می‌باشد که در منابع مختلف مورد تایید قرار گرفته است. از طرفی این رابطه می‌تواند خطی یا غیر خطی باشد، دلیل این قضیه این است که گاهی بخشی از آبی که تبدیل به تبخیر و تعرق می‌شود در رشد گیاه و عملکرد گیاه موثر نیست (۲).

در شکل ۴ رابطه تبخیر و تعرق و عملکرد محصول در این تحقیق ارایه شده است. مطابق شکل ۴، مشاهده می‌گردد که رابطه استخراج شده خطی و برازش خوبی بین عملکرد و تبخیر و تعرق گوجه‌فرنگی وجود داشت ($R^2$ = ۰/۹۸).

در جدول ۴ اثر مدیریت زمان آبیاری بر میانگین وزن میوه رسیده و قطر ریشه گوجه‌فرنگی ارایه شده است (نتایج آزمون دانکن). بررسی نتایج جدول ۴ بیانگر این است که تأثیر تیمار آبیاری $I_1$ و $I_2$ بر وزن میوه رسیده گوجه‌فرنگی مشابه هم بوده و تفاوت معنی داری بین مقادیر آن‌ها وجود نداشت. اما مقدار وزن رسیده گوجه‌فرنگی در $I_3$ (۴۶/۰۶ گرم) نسبت به دو تیمار دیگر کاهش معنی‌داری داشت (۳۳ تا ۳۷ درصد). بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان با آبیاری در زمان ۵۰ درصد تخلیه مجاز رطوبتی به جای ۴۰ درصد تخلیه مجاز رطوبتی، بدون اینکه تغییر معنی‌داری در وزن میوه‌رسیده گوجه‌فرنگی حاصل گردد. قطعا این امر می‌تواند موجب صرفه‌جویی در میزان آب آبیاری شود که در شرایط فعلی کشور ایران و محدودیت‌های منابع آب می تواند بسیار کارگشا باشد. نتایج تحقیقات مصفا و سپاسخواه (۲۱) نیز بر روی اثر تنش رطوبتی نشان داد اگر چه تنش رطوبتی موجب کاهش عملکرد محصول می‌شود اما ارزش اقتصادی آب صرفه‌جویی شده حدود دو برابر کاهش عملکرد بود که می‌تواند در مجموع موجب منفعت اقتصادی بیشتر شود.




**شکل ٤- همبستگی تبخیر و تعرق و عملکرد گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre در سطوح مختلف شوری**

**Figure 4- Yield and evapotranspiration correlation of tomato cv. Saint Pierre in different level of salinity**

همان‌طور که در جدول ۴ مشخص است نحوه تغییرات قطر ریشه در هنگام تغییر زمان آبیاری، مشابه تغییرات وزن میوه رسیده می‌باشد. البته باید دقت داشت گر چه اثر تیمار مدیریت زمان آبیاری $I_1$ و $I_2$ بر قطر ریشه دارای تفاوت معنی‌داری نبود، اما با افزایش میزان تنش آبی میزان قطر ریشه افزایش یافت. در سایر تحقیقات نیز اثر مشابه این پدیده مشاهده شده است که به‌طور نمونه می‌توان به افزایش ضخامت برگ، کوتینی شدن و چرمی شدن شاخ و برگ گیاه در اثر آبیاری دیرهنگام (و ایجاد تنش رطوبتی) اشاره کرد، که بسیاری از این موارد در راستای مقاومت و کاهش میزان خسارات وارده به گیاه در برابر تنش رطوبتی انجام می‌شود (۲).

**جدول ٤- اثر سطوح مختلف زمان آبیاری بر وزن میوه رسیده و قطر ریشه گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre**

**Table 4- The effect of different levels of irrigation time on the ripe fruit weight and root diameter of tomato cv. Saint Pierre**

| تیمار Treatment | وزن میوه رسیده Ripe fruit weight (g) | قطر ریشه Root diameter (mm) |
|---|---|---|
| $I_1$ | 68.81 $^a$ | 1.86 $^b$ |
| $I_2$ | 73.06 $^a$ | 2.00 $^b$ |
| $I_3$ | 46.06 $^b$ | 2.37 $^a$ |

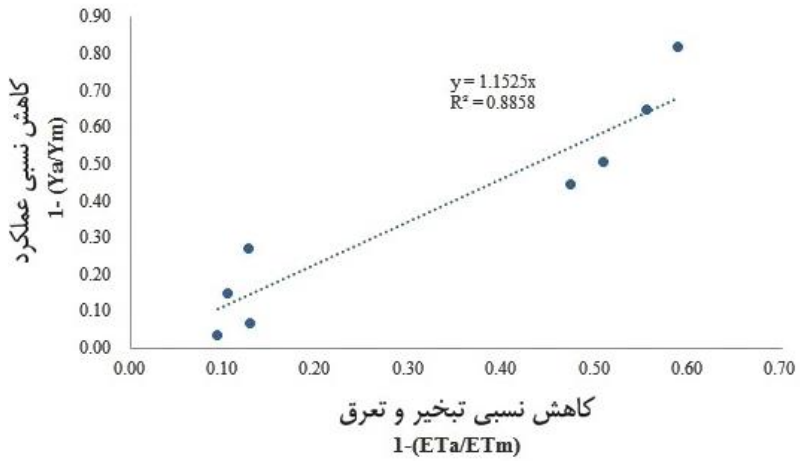
حرف یکسان در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد است.

Same letters at each column are indicating not significant difference between numbers at probability $p<0.05$

میزان تبخیر و تعرق با عملکرد محصول دارای رابطه مستقیم و معمولا خطی هستند (۲). در این تحقیق، کاهش نسبی عملکرد گوجه‌فرنگی و رابطه آن با کاهش نسبی میزان تبخیر و تعرق گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گرفت ($ET_m$ و $Y_m$: به‌ترتیب حداکثر میزان تبخیر و تعرق و محصول تولیدی). همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌گردد هر چقدر میزان کاهش نسبی تبخیر و تعرق گوجه‌فرنگی بیشتر شود کاهش نسبی عملکرد نیز بیشتر می‌شود. همچنین رابطه به‌دست آمده خطی می‌باشد و دارای ضریب همبستگی بالا ($R^2$ = ۰/۸۸) می‌باشد.

بر اساس نتایج این تحقیق، مقادیر ضریب واکنش عملکرد گوجه‌فرنگی نسبت به تنش آبی ($K_y$) بین ۰/۴ تا ۱/۲۰ متغیر بودند. همچنین میانگین ضریب واکنش عملکرد گوجه‌فرنگی نسبت به تنش برابر ۱/۱۲ به‌دست آمد. این مقدار نزدیک به میانگین ارایه شده $K_y$ توسط سازمان فائو ($K_y$ =۱/۰۵) بود.

احتمالا افزایش اندکی که در مقدار $K_y$ به دست آمده از این تحقیق نسبت به مقدار فائو وجود دارد به خاطر تنش شوری است که به گیاه گوجه‌فرنگی اعمال شده است. در سایر تحقیقات مشابه، مقادیر $K_y$ در شرایط توام تنش شوری و خشکی در بازه‌های ۰/۹۷ تا ۱/۶۷ و ۱/۰۹ تا ۱/۹۴ به دست آمدند (۱۹ و ۲۵).




**شکل ۵- همبستگی بین کاهش نسبی تبخیر و تعرق و کاهش نسبی عملکرد گوجه‌فرنگی رقم Saint Pierre**

**Figure 5- Correlation between relative reduction of evapotranspiration and relative reduction of yield in tomato cv. Saint Pierre**

## نتیجه‌گیری

این مطالعه با هدف بررسی مدیریت آبیاری با آب شور در شرایط گلخانه انجام شد . نتایج این تحقیق نشان داد تأثیر شوری آب آبیاری بر بیشتر مقادیر عملکرد، اجزای عملکرد (تعداد شکوفه، وزن میوه و تعداد میوه) و خصوصیات ریشه (وزن، قطر و حجم ریشه، عملکرد، تبخیر و تعرق و زه‌آب خروجی) معنی‌دار بود. از طرفی تنش رطوبتی اعمال‌شده در اثر تغییر زمان ابیاری به‌جز دو مورد در سایر موارد تأثیر معنی‌داری بر عملکرد، اجزای عملکرد و خصوصیات ریشه گوجه‌فرنگی نداشت.

همچنین بر اساس نتایج این تحقیق، استفاده از آب آبیاری با شوری ۲/۵ دسی‌زیمنس بر متر به‌جای ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر بر روی قطر ریشه، حجم ریشه، عملکرد گوجه‌فرنگی و مجموع تبخیر و تعرق گیاه در طول فصل رشد تأثیر معنی‌داری نداشت و چه بسا موجب افزایش آن نیز شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در شرایط فعلی کشور ایران (کمبود کمی و کیفی روز افزون منابع آب) می‌توان با استفاده از آب‌های با کیفیت پایین‌تر مانند پساب‌های تصفیه‌شده کارخانه‌ها و زه‌آب‌های کشاورزی (البته با رعایت مدیریت شوری و آبشویی) عملکرد قابل قبولی برای محصولات زراعی شاهد بود.

## منابع


1- Abdoli A. 2017. Determinig the best water uptake functions of tomato plant under simultanous salinity and water stress conditions. M.Sc. Thesis. University of Mohaghegh Ardabili, Iran. (In Persian with English abstract)

2- Alizadeh A. 2011. Soil, Water, Plant Relationship. University of Emam Reza, Mashhad. (In Persian)Rahman M.A., Smith J.G., Stringer P., and Ennos A.R. 2011. Effect of rooting Conditions on the growth and Cooling ability of pyrus Calleryana. Urban Forestry and Urban Greening 10: 185- 192.

3- Ardalani H., Babazade H., and Ebrahimi H. 2017. Modeling response of tomato (*Solanum lycopersicum*) under simultaneous water salinity and nitrogen deficiency stresses. Journal of Water Research in Agriculture 31(1):87-104. (In Persian with English abstract)

4- Bahram Nejad R., and Saffari M. 2014. The effects of different seed priming agents on morphological characteristics, yield, yield components and water extract of fennal (*Foeniculum vulgar Mill*) in water stress condition. Journal Irrigation and Water Engineering 5(1): 14-29. (In Persian with English abstract)

5- Cantore V., Lechkar O., Karabulut E., Sellami M.H., Albrizio R., Boari F., Stellacci A.M., and Todorovic M. 2016. Combined effect of deficit irrigation and strobilurin application onyield, fruit quality and water use efficiency of “cherry” tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Agricultural Water Management 167: 53–61.

6- Daneshvar Vousoughi F., Dinpashoh Y., and Aalami M. 2011. Effect of drought on groundwater level in the past two decades (case study: Ardebil Plain). Water and Soil Science 21(4): 165-179. (In Persian with English abstract)

7- Dehghan H., Alizadeh A., Esmaeili K., and Nemati S.H. 2015. Root growth, yield and yield components of tomato under drought stress. Journal of Water Research in Agriculture 29(2):169-179. (In Persian with English abstract)

8- Doorenbos J., and Kassam A.H. 1979. Yield response to water. FAO Irrigation and Drainage paper no. 33.

9- Farhadi H., Azizi M., and Nemati S.H. 2017. Study of germination characteristics of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) population under Salinity and Drought Stress. Journal of Horticulture Science 31(1):49-60. (In Persian)

10- Ghaedi S., Afrasiab P., and Liaghat A.M. 2016. Comparison of conjunction methods of sorghum grown in saline and non-saline water and salt adjustment- physiological properties in the soil profile. Journal of Irrigation Science and Engineering 39(1):167-179. (In Persian with English abstract)

11- Ghahramani Pirsalami F., Rahnam A., Siahpoosh M.R., and Broomand Nasab S. 2016. Effect of sprinkler irrigation with saline water on some morph-physiological traits and grain yield of maize (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Crop Sciences 18(2): 135-146. (In Persian)

12- Hassanli M., Parsinejad M., and Ebrahimian H. 2016. Increasing irrigation water use efficiency under drip irrigation using saline water. Journal of Irrigation Science and Engineering 39(3): 187-194. (In Persian with English abstract)

13- Heydarnejad S., and Ranjbar Fordoii A. 2014. Assessment of salinity stress on some growth characteristics and ion accumulation in *Seidlitzia rosmarinus*. Journal of Desert Ecosystem Engineering 4: 1-10. (In Persian)

14- Hosseini Y., Babazade H., and Khakpor Arablo B. 2015. Modeling evaluating water uptake reduction functions under salinity and water stress conditions in pepper (*Capsicum annuum*). Journal of Water Research in Agriculture 29(4): 509-523. (In Persian with English abstract)

15- Hosseini Y., Ramezani Moghadam J., Nikpour M.R., and Abdoli A. 2018. Evaluating water uptake functions under simultaneous salinity and water stress conditions in cherry tomato (*Solanum lycopersicum*). Journal of Water Research in Agriculture 32(2): 247-265. (In Persian with English abstract)

16- Jamali S., Sharifan H., and Sajadi F. 2018. Utilization of Caspian Sea water for irrigation of sweet pepper (*Capsicum annum*) under greenhouse conditions. Journal of Water and Soil Conservation, 25 (1): 243-256. (In Persian with English abstract)

17- Kesari Sh., Mandal R., Bhunia G.S., Kumar K., and Das P. 2014. Spatial distribution of P. argentipes in association with agricultural surrounding environment in North Bihar, India. Journal of Infection in Developing Countries 8(3): 358-364.

18- Kheirabi J., Tavakkoli A.R., Entesari M.R., and Salamat A.R. 1996. Deficit irrigation manual. Iranian National Committee on Irrigation and Drainage, Tehran. (In Persian)

19- Mohammadi M., Liaghat A.M., and Molavi H. 2010. Optimization of water use and determination of tomato sensitivity coefficients under combined salinity and drought stress in Karaj. Journal of Water and Soil 24(3):583-592. (In Persian with English abstract)

20- Momenpour A., Imani A., and Bakhshi D. 2018. Effect of salinity stress on some biochemical characteristics four genotypes of almond (*Prunus dulcis*). Journal of Water Research in Agriculture 32(2): 201-216. (In Persian with English abstract)

21- Mosaffa H.R., and Sepaskhah A.R. 2019. Performance of irrigation regimes and water salinity on winter wheat as influenced by planting methods. Agricultural Water Management 216: 444–456.

22- Ors S., and Suarez D.L. 2017. Spinach biomass yield and physiological response to interactive salinity and water stress. Agricultural Water Management 190: 31–41.

23- Piri H., Ansari H., and Parsa M. 2018. The interaction effect of salinity, drought and harvesting dates on yield, quality and efficiency of forage sorghum in subsurface drip irrigation (case study: Sistan plain). Journal of Irrigation Sciences and Engineering 41(1): 99-114. (In Persian with English abstract)

24- Ramezani Moghaddam J., Hosseini Y., Nikpour M.M., and Abdoli A. Evaluation the effects of the irrigation water salinity and water stress on yield components of cherry tomato. Journal of Water and Soil 32(3): 489-500. (In Persian with English abstract)

25- Ranjbar GH.H., and Soltani Gerdfaramarzi V. 2017. Comparison of yield and leaf minerals concentration of sorghum and kochia under irrigation water salinity and different kochia planting density. Journal of Water Research in Agriculture 31(1):29-42. (In Persian with English abstract)

26- Shahrokhnia M.A., Shah Amirian M., and Olyan Ghiasi A. 2018. Influence of irrigation water on quality and quantity of tomato yield under seedling cultivation. Iranian Journal of Irrigation and Drainage 10(2):177-186. (In Persian with English abstract)

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 223-234
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۳۴-۲۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# The Effect of Salinity Stress on Tomato Root Characteristics (Saint Pierre) and its Yield under Irrigation Time Management

A. Abdoli[1] - J. Ramezani Moghadam[2*] - Y. Hosseini[3] - M.R. Nikpour[4] - H. Dehghan[5]
Received: 15-04-2020
Accepted: 30-01-2021

**Introduction:** Nowadays, the decrease of water resources and increasing salinity of irrigation water are evident in most parts of Iran. Increased salinity of irrigation water can impair plant metabolism, decrease biomass and stem length. On the other hand, water stress decreases root length and weight and crop yield. One way to reduce the negative effects of moisture stress is management of irrigation time. This can be investigated by changing the percentage of moisture permitted depletion and selecting the one with the lowest yield depletion. On the other hand, the amount of damage to the crop can be reduced by examining different amounts of water salinity and its effect on crop yield. Therefore, in this study, the effects of different amounts of irrigation water salinity and irrigation time management on tomato yield under greenhouse conditions were investigated.

**Materials and Methods:** This study was carried out in greenhouse (No. 2) of Faculty of Agriculture and Natural Resources of University of Mohaghegh Ardabili. In this research, the effect of different values of salinity (in different irrigation times) on root characteristics and yield of tomato (Saint Pierre cultivar) was investigated. The experimental design used in this research was a factorial experiment in a completely randomized block design with four replications. The applied treatments included salinity of irrigation water (four levels: S1=1.5ds/m, S2=2.5ds/m, S3=4ds/m and S4=7ds/m) and irrigation time management stress (in three levels, irrigation at 40, 50 and 65% field capacity, respectively, I1, I2, I3). The pots used in this study were incomplete cones with a height of 27 cm, a span diameter of 26 cm and a bottom diameter of 19 cm. In this study, indirect method (transplanting) was used for cultivating tomato. After cultivating the transplants in prepared pots, they were irrigated with pure water for two months to stabilize the transplants in order to avoid any stress effect on the transplants. The moisture meter (Model: PMS-714) was also used to measure daily soil moisture of the pots. Statistical analysis was performed by MSTATC software. The important characteristics investigated in this study were root length, root weight (dry and wet), root diameter and volume, plant yield, water drainage, evapotranspiration and water use efficiency.

**Results and Discussion:** According to the results of this study, salinity values of irrigation water had a significant effect at 1% level on fresh and dry root weight, root diameter and volume, total evapotranspiration, total water use, total water drainage output, crop yield and the number of blooms. On the other hand, irrigation water salinity had no significant effect on the number of unripe fruits at 5% confidence level. For example, the highest fresh and dry weight of roots were 26.17 and 6.3 g for S2 treatment, respectively. However, the difference in root weight values for S2 and S1 treatments (Mean equal to 27.5%) was not significant. Also, with increasing salinity of irrigation water above 2.5 dS/m, root weight (dry and fresh) decreased significantly (at 1% level). The reason for the decrease in root weight at high level of salt concentrations can be due to the accumulation of salt (including potassium, sodium, etc.) in various organs of the plant including the root. On the other hand, the results showed that the effect of irrigation time management was significant only on root

**1**, 2 and 4- Former Student M.Sc. and Assistant Professors Water Engineering Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: j_ramezani@uma.ac.ir)
3- Associate Professor of Water Engineering Department, Agriculture and Natural Resources Faculty of Moghan, University of Mohaghegh Ardabili, Iran
5- Assistant Professor, Water Science and Engineering Department, Kashmar Higher Education Institute, Kashmar, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2021.61809.0

diameter and weight of ripe fruit at 5% and 1%, respectively. According to the results of this study, irrigation can be achieved with 50% moisture allowable depletion instead of 40% moisture permitted depletion without significant change in the weight of ripe tomato fruit. This can certainly cause saving of irrigation water that can be very effective in the current condition of Iran and lack of water resources. In this study, the relationship between evapotranspiration and crop yield and the relationship between these parameters, were investigated. Results showed that, tomato yield coefficient of response to moisture stress (Ky) varied from 0.4 to 1.20. Also the average response coefficient of tomato to water stress was 1.12. This value was close to the mean Ky provided by the FAO (Ky = 1.05). The slight increase in Ky value obtained from this study is probably due to the salinity stress applied to the tomato plant.

**Conclusion:** This study was conducted to investigate the effect of salinity stress on yield and root characteristics of tomato under irrigation time management and greenhouse conditions. The results showed that the effect of irrigation salinity was significant on yield, yield components and root characteristics (e.g., root weight, diameter and volume, yield, evapotranspiration and drainage output). On the other hand, moisture stress induced by irrigation time variation had no significant effect on yield, yield components and root characteristics of tomato except in two cases. This study indicated that the effect of salinity irrigation water is more effective than water stress on reduction yield. Also, according to the results of this study, the use of 2.5 dS/m irrigation water salinity instead of 1.5 dS/m in most cases had no significant effect on yield reduction but may also increase it. The results of this study show that under current conditions of Iran (increasing quantitative and qualitative shortage of water resources) it is possible to use lower quality waters such as treated wastewater and agricultural wastewater (with management of salinity and leaching) to achieve the acceptable yields for crops.

**Keywords:** Maximum allowable depletion, Moisture stress, Water quality, Water use efficiency

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 235-251
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۵۱-۲۳۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# مطالعه تأثیر فلزات سنگین کادمیم و سرب بر خصوصیات رشد و ویژگی‌های کیفی گیاه دارویی بادرنجبویه

سید محمدباقر رضوی نیا[1]- نسیبه پورقاسمیان[2]*- فرزاد نجفی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۳

## چکیده

آلودگی خاک به فلزات سنگین به دلیل خطرات زیست محیطی که برای سلامت انسان دارد، در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. به منظور بررسی واکنش‌های زیستی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) در شرایط تنش کادمیم و سرب، این مطالعه در طرح فاکتوریل و در قالب بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. کادمیم در چهار سطح (صفر، ۶، ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور اول و سرب در چهار سطح (صفر، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب در کیلوگرم خاک) به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد با افزایش غلظت کادمیم و سرب وزن خشک اندام هوایی و ریشه، میزان پروتئین، میزان فتوسنتز، سرعت تعرق و کارایی فلورسانس کلروفیل کاهش معنی‌دار یافت، با این وجود، این کاهش در حضور کادمیم بیش از سرب مشاهده شد. اثر متقابل دو عنصر نیز صفات مذکور را کاهش داد. همچنین میزان مالون دی آلدهید، درصد اسانس و پرولین با افزایش غلظت هر دو عنصر در محیط افزایش یافت. با اینحال اثر متقابل دو عنصر بر صفات مذکور نشان داد که همراهی دو عنصر با یکدیگر باعث کاهش اثر منفی هر یک از عناصر به تنهایی می‌شود. افزایش غلظت هریک از عناصر کادمیم و سرب به تنهایی غلظت همان عنصر را در بخش هوایی و ریشه به طور معنی‌داری افزایش داد و این مسئله بیانگر رابطه مستقیم بین مقدار فلز در محیط و جذب آن توسط گیاه است. غلظت کادمیم در بخش هوایی و ریشه در بالاترین سطح کادمیم (۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، به ترتیب ۱/۹۶و ۰/۹۸(میکروگرم بر گرم وزن خشک) گزارش شد. غلظت سرب در بخش هوایی و ریشه در بالاترین سطح آن (۴۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) به ترتیب ۳/۵۵ و ۲/۰۲ (میکروگرم بر گرم وزن خشک) گزارش شد. همچنین اثر متقابل دو عنصر نشان داد که افزایش کادمیم در محیط باعث کاهش غلظت سرب در گیاه شد و افزایش غلظت سرب در محیط باعث کاهش غلظت کادمیم در گیاه شد. هیچ یک از دو عنصر سرب و کادمیم در اسانس این گیاه مشاهده نشد. همچنین در سطوح ۱۲ و ۲۴ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک (سطوح بالای کادمیم)، افزایش غلظت سرب از ۱۵۰ به ۴۵۰ میلی‌گرم، فاکتور انتقال کادمیم را ۶/۹۷ و ۱۱/۲۶ درصد افزایش داد. از مطالعه حاضر می توان دریافت که به طور کلی، گیاه از کادمیم بیشتر از سرب آسیب دیده و اثر بازدارندگی کادمیم و سرب روی یکدیگر تقریباً در تمام صفات مشاهده شد، همچنین با توجه به عدم حضور عناصر در اسانس، شاید بتوان گیاه بادرنجبویه را به عنوان گزینه مناسبی جهت کشت در مناطق آلوده معرفی نمود.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس، پرولین و پروتئین، فلورسانس کلروفیل، سرعت تنفس

## مقدمه

یکی از مهمترین مسائل مهم دهه‌های اخیر، آلودگی محیط زیست و مسائل مربوط به آن است. انسان در اثر فعالیت‌های روزمره خود (توسعه‌ی شهری، افزایش جمعیت و رشد منابع و استفاده بیش از حد از نهاده‌های کشاورزی و ...) مقادیر قابل توجهی از آلاینده‌های مختلف را به منابع آب، خاک و هوا وارد می‌کند. از بین آلاینده‌های موجود، تجمع عناصر سنگین به یک مشکل زیست محیطی جهانی تبدیل شده است (۶).

دوام بلند مدت زیست شناختی و باقی ماندن در خاک، سبب انباشته شدن این فلزات در خاک و زنجیره غذایی انسان می‌گردد. انواع

۱ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته دوره کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاهان دارویی، دانشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی تهران
۲- استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: n.pourghasemian@uk.ac.ir
DOI: 10.22067/jhs.2021.61820.0

آلودگی های شیمیایی من جمله آلودگی به عناصر سنگین و اثرات مضر آن یکی از دلایل بسیار مهم بیماریهایی مثل سرطان است (۶).

سرب (Pb) عنصریست فلزی با عدد اتمی ۸۲، سمی، براق، انعطاف‌پذیر، بسیار نرم، شدیداً چکش خوار ،با حرکت کند در خاک، که باعث می‌شود بیشتر در سطح خاک انباشته شود (۲۲). کادمیم (Cd) عنصری شیمیایی با عدد اتمی ۴۸ و سمی که در خاک‌های آهکی غیر پویاست و در لایه های سطحی خاک تجمع پیدا می‌کند (۵). حد بحرانی حضور کادمیم در خاک ۳ و در گیاه ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و سرب در خاک ۱۰۰ و در گیاه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، که توسط نهادهای مختلفی معرفی شده است (۴۳).

از اثراتی که کادمیم و سرب، بر عملکرد و فیزیولوژی گیاه می گذارد می‌توان اشاره کرد به تخریب ساختار واکوئل، از بین رفتن دیواره‌ی سلولی و کاهش توسعه و فعالیت میتوکندری، کاهش موثر بر سیستم تعرق گیاهی،تخریب ساختار کلروفیل a و b، کاهش تعادل یونی در سیتوزول، که باعث کاهش فعالیت سیستم فتوسنتزی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود (۳).

همچنین از اثرات عناصر کادمیم و سرب بر فرآیندهای بیوشیمیایی گیاهان، می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی در غلظت‌های بالا اشاره کرد که احتمالا به دلیل غیرفعال شدن آنزیم‌ها توسط *ROS* و کاهش سنتز آنزیم و یا تغییر در اجتماع زیر واحدهای آنزیم می‌باشد (۳۰).

از طرفی غلظت‌های بالای این عناصر سمی در گیاه، ممکن است به طرق مختلف در رشد گیاه تداخل ایجاد نماید. از جمله این اختلالات، کاهش فعالیت‌های آنزیمی، اختلال در فتوسنتز بسته شدن روزنه‌ها و ممانعت از جذب عناصر غذایی (۴۹) می‌باشد.

از طرفی، بر اساس نظر برخی محققین با افزایش میزان کادمیم، تغییری در وزن خشک و عملکرد اسفناج مشاهده نشده است (۱۶).

همچنین بر اساس برخی پژوهش‌ها مانند پژوهشی که بر روی نعناع فلفلی انجام شد، غلظت ۰/۱۲ و ۶/۱ پی‌پی‌ام تاثیری بر درصد اسانس نعناع فلفلی نداشته است. از طرفی زلجاسکو و نیلسون (۵۳) نیز گزارش کردند که طی تنش کادمیم و سرب و مس و روی، عملکرد اسانس و عملکرد وزن تر گیاه کاهش یافته است.

گیاهان داروئی به طورکلی دربرگیرنده همه انواع گیاهان اعم از داروئی، ادویه ای، معطر و... می‌باشد اما طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی[1]، گیاهان دارویی به گیاهانی گفته می‌شود که تمام یا بخشی از آن، حاوی مواد موثری باشد که به دور از طی کردن مراحل ساخت صنعتی، بتواند تاثیرات درمانی مفیدی برای بدن داشته باشد و با تنظیم فعالیت دستگاه‌های مختلف بدن به درمان بیماری‌ها کمک کند. البته از بین تمامی گونه‌های شناخته شده‌ی گیاهان فقط ۰/۲ درصد آنها توانایی گیاه پالایی[2]را دارند (۸).

گیاه دارویی بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* از خانواده نعناع، گیاهی علفی، پایا، چند ساله دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده و حاوی آلفا توکوفرول سیترال، ژرانیول، لینالول و استات اوژنول، بتا کاریو فیلن می‌باشد (۳۳ و ۱۲). این گیاه به کمبود آهن در خاک حساس بوده، همچنین با توجه به ریشه‌های افشانی که دارد در برابر کم آبی نمی‌تواند زیاد دوام بیاورد (۳۳).

در مطالعه‌ای که توسط یعقوبیان و همکاران (۵۰) در بررسی پاسخ مولفه‌های فلورسانس کلروفیل بادرنجبویه در ۱۲ غلظت کادمیم از ۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک انجام شد، مشخص گردید که غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میلی‌گرم باعث آسیب جدی به فرایندهای فتوسنتزی و کاهش اسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها، آسیب به فتوسیستم I و II و درنتیجه حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II و افزایش خاموشی غیرفتوشیمیایی می‌شود. بااینحال پینتو و همکاران (۳۴) در مطالعه‌ای، غلظت عناصر کادمیم و سرب را در اندام رویشی هفت گیاه دارویی در پنج منطقه آلوده به عناصر سنگین بررسی کردند و نشان دادند که بادرنجبویه علاوه بر جذب غلظت بالایی از عناصر موجود عملکر قابل قبولی داشت. همچنین در مطالعه‌ای دیگر (۴) مصرف ۱۰۰ درصد پساب تصفیه شده از منطقه شهرکرد برای گیاه بادرنجبویه توصیه شد. در این تحقیق غلظت کادمیم و سرب موجود در گیاه، کمتر از حد مجاز آن گزارش شد و گیاه بادرنجبویه به عنوان یک گیاه مقاوم به شرایط موجود معرفی شد.

بنابراین با توجه به مطالعات اندک (۴، ۳۴ و ۵۰) صورت گرفته بر پاسخ این گیاه به تنش فلزات سنگین کادمیم و سرب، مطالعه حاضر با هدف بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی بادرنجبویه و میزان جذب عناصر سنگین فوق در این گیاه صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عامل بلوک بندی شدت نور بود. مطالعه در گلخانه‌ی پژوهشی دانشکده کشاورزی بردسیر، دانشگاه شهید باهنر کرمان در سال ۹۷ انجام شد. فاکتورها شامل کادمیم در چهار سطح صفر، ۶، ۱۲و ۲۴ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و سرب در چهار سطح صفر، ۱۵۰، ۳۰۰و ۴۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک)، در نظر گرفته شدند. لازم به ذکر است که تعیین غلظت‌ها با توجه به گزارشات و انجام یک پیش آزمایش صورت گرفته است.

ابتدا خاک ها را به منظور تامین مواد غذایی گیاه به نسبت ۱/۴ با

1- World Health Organization (WHO)

2- Phytoremediation

خاک برگ و کود (به عنوان فاز واحد) مخلوط کرده، سپس میزان کلرید کادمیم و کلرید سرب لازم برای رساندن خاک به غلظت‌های تعیین شده، توزین و به خاک اضافه شد. خاک آلوده با حفظ رطوبت در حد FC (ظرفیت مزرعه) به مدت دو ماه در محیطی مناسب انکوبه گردید.

بذرها (تهیه شده از شرکت سیکاس) در محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ده دقیقه ضدعفونی شدند و در سینی نشا کشت گردیدند. سپس گیاهچه‌ها در مرحله‌ی سه تا چهار برگی به گلدان‌های حاوی خاک آلوده انتقال داده شدند. آبیاری با روش وزنی و تا رساندن گلدان به نقطه‌ی FC صورت گرفت، همچنین به منظور جلوگیری ازشسته شدن فلزات سنگین و کاهش غلظت آنها در محیط رشد ریشه در زیر هر گلدان یک عدد زیرگلدانی قرار گرفت تا در صورت خروج زه آب محتوی زیرگلدانی‌ها به هرگلدان اضافه شود.

برداشت گیاهان بادرنجبویه بعد از گذشت حدود یک ماه و نیم از تاریخ انتقال به گلدان صورت گرفته، به گونه ای که گیاه تازه وارد مرحله‌ی گلدهی شده باشد. اندام هوایی گیاه از سطح خاک بریده شده و سپس ریشه‌ها با دقت از خاک بیرون آورده شد. نمونه‌هایی که برای تعیین صفات مرتبط با وزن خشک مورد نیاز بودند، در آون با دمای ۱۰۸ در جه سلسیوس و به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. مقداری از مواد گیاهی مورد نیاز برای اندازه‌گیری غلظت مالون دی آلدهید، پرولین در نیتروژن مایع، منجمد شد و سپس در فریزر ۸۰- تا زمان اندازه‌گیری صفات نگهداری شدند.

مقدار فلورسانس کلروفیل گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM -2500;Hansatech) اندازه‌گیری شد. از هر گیاه دو برگ کاملا توسعه یافته، انتخاب و به مدت ۳۰ دقیقه در بین گیره‌های دستگاه جهت سازگاری با تاریکی قرار داده شد و سپس میزان فلورسانس کلروفیل ثبت گردید (۲۹). برای تعیین میزان نرخ خالص فوتوسنتز و تعرق، در واحد سطح برگ از دستگاه فتوسنتز متر (IRGA) مدل (Korea tech) استفاده شد. برای این صفت نیز دو برگ کاملا توسعه یافته، انتخاب گردید و اندازه گیری‌ها بین ساعت ۱۰ صبح تا ۱۲ صبح صورت گرفت.

برای اسانس‌گیری ۳۰ گرم از سرشاخه‌های خشک شده آسیاب شدند. استخراج اسانس به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت چهار ساعت و در شرایط کاملاً یکسان انجام شد.

اندازه‌گیری عناصر کادمیوم و سرب در اسانس گیاه از طریق روش پیشنهادی ژلجازکوف و همکاران (۵۵) صورت گرفت. به اسانس حاصل از کلونجراجازه داده شد تا تبخیر شود به طوری‌که تنها روغن ته ظرف باقی بماند. سپس باقیمانده اسانس که کربونیزه شده بود به مدت ۴ ساعت در دمای ۴۰۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از سرد شدن، ۲ میلی‌لیتر نیتریک اسید غلیظ روی آن ریخته شد و به مدت یک ساعت داخل بلوک‌های حرارتی قرار گرفت. سپس برای اندازه گیری عناصر مذکور از تکنیک ICPMS استفاده شد.

اندازه‌گیری عناصر در اندام هوایی و ریشه و فاکتور انتقال بر اساس روش لیم و همکاران (۲۶) و با استفاده از دستگاه جذب اتمی شعله‌دار (SpectraA 55B, varian) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های گیاهی با استفاده از بلوک‌های حرارتی به کمک اسید نیتریک هضم تر گردید. فاکتور انتقال (TF) شامل نسبت کادمیم بخش هوایی به کادمیم در ریشه است که طبق رابطه ۱ محاسبه شد

رابطه ۱

مقدار کادمیم ریشه / مقدار کادمیم در بخش هوایی =TF

غلظت مالون‌دی‌آلدهید نیز به روش هیث و پاکر (۲۱) اندازه‌گیری شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره به‌دست آمده به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی، ۴ میلی‌لیتر محلول *TCA* یک دهم درصد، که حاوی ۰/۵ درصد تیورباربیتوریک‌اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب گرم و پس از آن بلافاصله در یخ سرد شده و سپس مجدداً به مدت ۵ دقیقه در۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. برای حذف اثر ترکیبات اضافی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر از جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر کسر شد. ازمحلول تریکلرواستیک اسید۴۰درصد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر Spekol 2000- Germany در طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر استفاده شد. برای محاسبه‌ی غلظت مالون دی آلدهید از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده گردید و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب وزن تر طبق رابطه ۲ محاسبه و ارائه شد.

رابطه ۲:

MDA :[(A532-A600)]*DF*X*1000*F.W*ε

MDA= [ A532-A600]*DF*x*1000*F.W*ε]

که در این رابطه A= مقدار جذب در یک طول موج مشخص، DF= Dilution Factor یا فاکتور رقت (در اینجا=۵)، X= درصدی از TCA که برای استخراج استفاده می‌شود، ε = ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-}$ و F.W= وزن نمونه تر گیاه است.

همچنین برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس (۱۹۷۴) در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد.

تجزیه واریانس داده ها با برنامه‌ی SAS (۹،۱) صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

## نتایج و بحث

### وزن خشک اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر اثر ساده کادمیم، سرب و اثر متقابل دو عنصر مذکور در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۱).

با افزایش غلظت کادمیم تا ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت به عدم حضور کادمیم، به ترتیب ۷۹ و ۷۳ درصد کاهش پیدا کرد. همچنین با افزایش میزان سرب تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نسبت به عدم حضور سرب، به ترتیب ۴۵ و ۴۱ درصد کاهش پیدا کرد. (جدول ۲). به نظر می‌رسد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیشتر توسط کادمیم نسبت به سرب صورت گرفت. از دیدگاه فیزیولوژی می‌توان اینگونه بیان نمود که به دلیل تحرک بیشتر کادمیم نسبت به سرب، همراه آب و شیره‌ی گیاهی، کادمیم بیشتر از سرب به اندام هوایی فرستاده می‌شود و در نتیجه مسمومیت بیشتری نسبت به سرب در اندام هوایی ایجاد می‌کند (۱).

کاهش رشد ناشی از سمیت عناصر سنگین، به علت کاهش فتوسنتز و تنفس (۳۱) و کاهش متابولیسم کربوهیدرات و آسیب به برخی آنزیم‌های فتوسنتزی مخصوصا آنزیم‌هایی که در چرخه‌ی کلوین و بیوسنتز کلروفیل نقش دارند همراه می‌باشد و ایجاد نکروزه[1] و کلروزه[2] می‌کند (۳۵ و ۴۰).

مطالعه‌ی انجام شده توسط قانی و همکاران (۱۹) به کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی لوبیا در اثر مصرف غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم کادمیم در کیلوگرم خاک اشاره دارد. همچنین کاهش وزن ریشه و شاخساره در گیاه گوجه فرنگی و بادمجان در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (۲۴).

بررسی اثر متقابل کادمیم و سرب بر وزن خشک نشان داد، حداکثر کاهش وزن خشک در ریشه و در اندام هوایی در تیمار ۲۴ کادمیم و ۴۵۰ سرب رخ داده است. این کاهش نسبت به شاهد، در ریشه ۹۰ درصد و در اندام هوایی ۸۷ درصد نشان داده شده است. به نظر می‌رسد سمیت ناشی از اثرات متقابل دو عنصر سمی، باعث تشدید اثرات، نسبت به حالت منفرد شده است (نمودار ۱ و ۲). نتایج پژوهشی در گیاه گندم نشان داد که حداکثر کاهش وزن خشک، تحت تنش اثر متقابل کادمیم و سرب، زمانی رخ می‌دهد که حداکثر غلظت عناصر در محیط باشد (۵۲).

در برخی مطالعات نیز عدم تاثیر معنی‌دار عناصر فلزی بر وزن خشک گیاه گزارش شده است. در پژوهش انجام شده روی نعناع فلفلی و ریحان، وزن خشک گیاه، تحت تاثیر غلظت‌های ۱۰ پی‌پی‌ام کادمیم و ۱۰۰ پی‌پی‌ام سرب قرار نگرفت (۵۳). این تفاوت در پاسخ بین گیاهان معمولا به ژنتیک گیاه مورد بررسی، غلظت‌های مورد استفاده برای گیاهان و شرایط پژوهش برمی‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد، کاهش در وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بیشتر توسط کادمیم نسبت به سرب صورت گرفت. از دیدگاه فیزیولوژی می‌توان اینگونه بیان نمود که به دلیل تحرک بیشتر کادمیم نسبت به سرب، همراه آب و شیره‌ی گیاهی، کادمیم بیشتر از سرب به اندام هوایی فرستاده می‌شود و در نتیجه مسمومیت بیشتری نسبت به سرب در اندام هوایی ایجاد می‌کند (۱).

**درصد اسانس**

تیمار کادمیم و سرب تاثیر معنی‌داری ($P>0.01$)، بر درصد اسانس نداشت. با این حال این صفت تحت تاثیر اثرات متقابل کادمیم و سرب قرار نگرفت (جدول ۱).

با افزایش غلظت کادمیم از شاهد به ۲۴ میلی‌گرم به کیلوگرم خاک، درصد اسانس ۴۷ درصد و با افزایش غلظت سرب از شاهد به ۴۵۰ میلی‌گرم به کیلوگرم خاک، این صفت ۲۵ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲).

حضور عناصر سنگین در مقادیر کم، در گیاه باعث افزایش متابولیت ثانویه و در نهایت افزایش تولید اسانس شده است. با این‌حال گزارش هایی متفاوت در این زمینه وجود دارد. رایی و همکاران (۳۸) نشان دادند که حضور کروم در محیط منجر به افزایش اوژنول و در نهایت اسانس گیاه ریحان می‌شود، به گونه‌ای که با افزایش غلظت کروم از شاهد به ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار، افزایش ۱۵ و ۲۵ درصدی نسبت به شاهد وجود داشته و با بالا رفتن غلظت کروم به ۱۰۰ میکرو مولار میزان اژنول ۴ درصد افزایش پیدا کرده است. در حالی‌که در مطالعه‌ای دیگر زلجازکف و نیلسون (۵۳) گزارش کردند که حضور سرب و کادمیم در محیط، باعث کاهش درصد اسانس گیاه نعناع فلفلی می‌شود. به طور کلی ترپنوئیدهای موجود در غده های اپیدرمی گیاهان حاوی اسانس، مصرف کننده‌ی کربنی است که از طریق فتوسنتز بدست می‌آید. در نتیجه سنتز اسانس درغده‌های اپیدرمی تابع تامین مداوم کربن فتو سنتزی است و اختلال در تغذیه کربن توسط عناصر سنگین می‌تواند باعث کاهش مقدار درصد اسانس شود (۴۵).

نکته قابل توجه دیگر در رابطه با تاثیرپذیری اسانس از عناصر سرب و کادمیم در مطالعه حاضر این بود که عناصر کادمیم و سرب در اسانس گیاه بادرنجبویه یافت نشد (اعداد نشان داده نشده است). گزارش‌های مختلفی مبنی بر تولید اسانس عاری از فلزات سنگین در گیاهان دارویی کشت شده در خاک‌های آلوده وجود دارد (۲۲ و ۵۴).

1- Necrotic
2- chlorosis

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه تحت اثر تیمار جداگانه سرب و کادمیم

**Table 1- ANOVA (mean square) for biomass and physiological traits of lemon balm affected by indevidual application of Cd and Pb**

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | وزن خشک ریشه Root dryweight | وزن خشک اندام هوایی Shoot dryweight | نرخ خالص فتوسنتز PAR | درصد اسانس Essential oil (%) | فلورسانس Fv/Fm | سرعت تعرق Transpiration rate | غلظت کادمیم ریشه Root Cd concentration | غلظت کادمیم اندام هوایی Shoot Cd concentration | غلظت سرب ریشه Root Pb concentration | غلظت سرب اندام هوایی Shoot Pb concentration | فاکتور انتقال کادمیم TF (Cd) | پرولین Prolin | مالون دی آلدهید MDA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| R تکرار | 2 | $0.062^{ns}$ | $0.307^{ns}$ | $2.36^{ns}$ | $0.000007^{ns}$ | $0.001^{ns}$ | $0.000006^{ns}$ | $1.80^{ns}$ | $0.013^{ns}$ | $121.7^{ns}$ | $2.67^{ns}$ | $0.001^{ns}$ | $2.37^{ns}$ | $22.88^{ns}$ |
| Cd کادمیم | 3 | $32.75^{**}$ | $70.50^{**}$ | $42.07^{**}$ | $0.020^{**}$ | $0.891^{**}$ | $0.672^{**}$ | $4594.4^{**}$ | $688.0^{**}$ | $75611.5^{**}$ | $394.7^{**}$ | $0.056^{**}$ | $103.7^{**}$ | $1724.0^{**}$ |
| Pb سرب | 3 | $6.76^{**}$ | $15.15^{**}$ | $14.78^{*}$ | $0.007^{**}$ | $0.408^{**}$ | $0.352^{**}$ | $166.4^{**}$ | $30.74^{**}$ | $81578.2^{**}$ | $5731.9^{**}$ | $0.014^{**}$ | $278.9^{**}$ | $391.3^{**}$ |
| Cd×Pb سرب×کادمیم | 9 | $0.440^{**}$ | $0.731^{*}$ | $3.68^{ns}$ | $0.0002^{ns}$ | $0.0002^{ns}$ | $0.024^{ns}$ | $24.28^{**}$ | $7.44^{**}$ | $10689.9^{*}$ | $93.70^{**}$ | $0.016^{**}$ | $11.20^{**}$ | $27.19^{*}$ |
| Total Error خطای کل | 60 | 0.016 | 0.150 | 1.87 | 0.0004 | 0.0003 | 0.026 | 3.03 | 0.710 | 84.33 | 10.95 | 0.003 | 5.16 | 5.19 |
| CV (%) ضریب تغییرات | | 4.30 | 7.94 | 9.41 | 9.02 | 3.41 | 10.53 | 7.40 | 8.67 | 7.62 | 12.79 | 7.16 | 6.35 | 5.45 |

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: non-significant and significant in the level of 5% and 1%, Respectively.

Cd و Pb: به ترتیب تیمارهای کادمیم و سرب

Cd, Pb: Cadmium and Lead element application, Respectively.

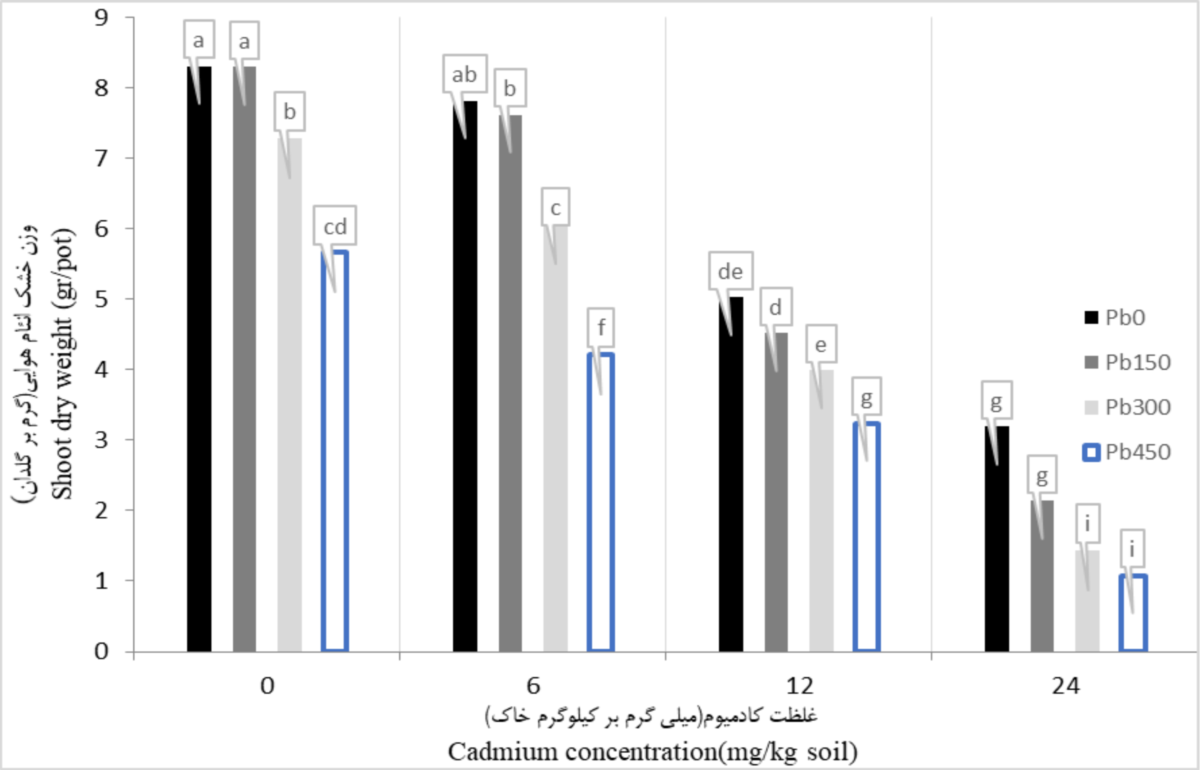
جدول ۲- اثر تیمار جداگانه سرب و کادمیم برصفات عملکردی و فیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه

**Table 2– The effect of Cd and Pb on yield and physiological traits of lemon balm**

| تیمارها (mg.kg-1) | وزن خشک ریشه Root DW (µg.g-1 DW) | وزن خشک اندام هوایی Shoot DW (µg.g-1 DW) | نرخ خالص فتوسنتز PAR | درصد اسانس Essential oil (%) | فلورسانس Fv/Fm | سرعت تعرق Transpiration rate mmH2O.m-2.s-1 | غلظت کادمیم ریشه Cd root concentration (µg.g-1 biomass) | غلظت کادمیم اندام هوایی Cd shoot concentration (µg.g-1 biomass) | غلظت سرب ریشه Pb root concentration (µg.g-1 biomass) | غلظت سرب اندام هوایی Pb shoot concentration (µg.g-1 biomass) | فاکتور انتقال کادمیم TF(Cd) | پرولین Prolin (µmol.g-1 FW) | مالون دی آلدهید MDA (µmol.g-1FW) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کادمیم Cd | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 4.72 a | 7.39 a | 16.27a | 0.200d | 0.650a | 1.77a | 31.88 a | 0.774 b | 1.92 d | 0.95 d | 168.32 a | 23.88d | 30.67d |
| 6 | 3.88 b | 6.42 b | 15.55a | 0.227c | 0.622b | 1.65a | 28.65 b | 0.680 c | 15.55 c | 6.30 c | 162.32 a | 30.68c | 33.90c |
| 12 | 2.40 c | 4.19 c | 14.35b | 0.262b | 0.572c | 1.50b | 24.31 c | 0.874 a | 28.69 b | 13.84 b | 146.27 b | 37.61b | 45.42b |
| 24 | 0.98 d | 1.96 d | 12.00c | 0.295a | 0.455d | 1.32c | 18.63 d | 0.768 b | 47.85 a | 17.87 a | 133.67 c | 47.33a | 57.02a |
| سرب Pb | | | | | | | | | | | | | |
| 0 | 3.71 a | 6.08 a | 15.65a | 0.222c | 0.632a | 1.70a | 2.92 d | 0.774 b | 27.89 a | 11.58 a | 4.10 d | 31.10d | 36.35d |
| 150 | 3.44 b | 5.64 b | 15.32a | 0.232bc | 0.607b | 1.65a | 16.02 c | 0.680 c | 24.85 b | 10.32 b | 90.50 c | 33.20c | 38.76c |
| 300 | 2.81 c | 4.69 c | 13.80b | 0.250b | 0.560c | 1.45b | 30.60 b | 0.847 a | 22.05 c | 9.24 c | 231.75 b | 36.67b | 42.47b |
| 450 | 2.02 d | 3.55 d | 13.40c | 0.280a | 0.500d | 1.32c | 53.92 a | 0.768 b | 19.22 d | 7.82 d | 284.25 a | 42.13a | 49.44a |

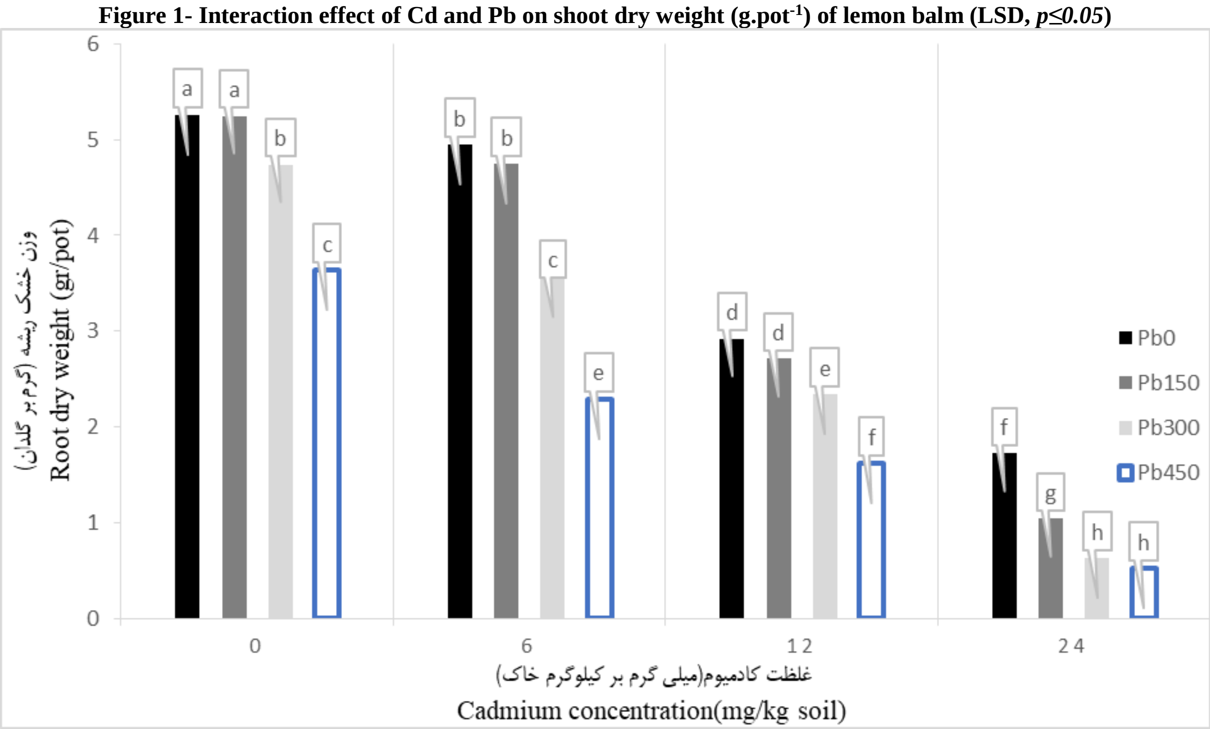
برای هر تیمار، حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشد.

For each treatment, column means with the same letter are not significantly different by LSD test ($P< 0.05$)




**شکل ۱- اثر متقابل کادمیم × سرب بر وزن خشک اندام هوایی (گرم /گلدان) گیاه بادرنجبویه**

**Figure 1- Interaction effect of Cd and Pb on shoot dry weight (g.pot$^{-1}$) of lemon balm (LSD, *p≤0.05*)**




**شکل ۲- اثر متقابل کادمیم × سرب بر وزن خشک ریشه (گرم /گلدان) گیاه بادرنجبویه**

**Figure 2- Interaction effect of Cd ×Pb on Root dry weight (g.pot$^{-1}$) of lemon balm (LSD, *p≤0.01*)**

اسکاورونی و همکاران (۴۱) معتقدند که نعناع فلفلی می‌تواند بدون نگه داشتن عناصر سنگین در اسانس خود به عنوان یک پالایشگر سبز استفاده شود.

### فلورسانس کلروفیل

تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی نشان داد که اثر ساده کادمیم و سرب بر میزان فلورسانس کلروفیل، معنی‌دار شد ($P>0.01$)، درحالی‌که اثر متقابل کادمیم و سرب بر تغییرات فلورسانس معنی‌دار نبوده است (جدول ۱). با افزایش کادمیم و سرب، میزان فلورسانس کلروفیل کاهش یافت. به طوری‌که کمترین میزان فلورسانس کلروفیل در حضور بالاترین غلظت کادمیم (۲۴) و بالاترین غلظت سرب (۴۵۰) به ترتیب ۰/۴۵و ۰/۵۰ گزارش شده و بیشترین مقدار آن ۰/۶۵۰ در تیمار شاهد بود (جدول ۲). با افزایش غلظت کادمیم از صفر به ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، مقدار فلورسانس از ۰/۶۵۰ به ۰/۴۵۵ تقلیل پیدا کرد. همچنین در حضور سرب در محیط، در زمانی که غلظت سرب از صفر به ۴۵۰ افزایش می‌یابد، میزان فلورسانس از ۰/۶۳۲ به ۰/۵۰۰ می‌رسد که ناشی از اثر منفی حضور عناصر سنگین در محیط است (جدول ۲).

یکی از دلایلی که منجر به غیر فعال شدن یا کاهش fv/fm می شود حرکت کند چرخه‌ی انتقال الکترون، به دلیل آسیب به زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم دو است که به دلیل کاهش ظرفیت کوئینون آ بوده است (۵۶).

Fv/Fm به عنوان شاخصی معتبر برای نشان دادن بروز تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری است زیرا که نشان دهنده‌ی ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم دو می‌باشد (۲۹).

در پژوهشی که بر روی گیاه گلرنگ انجام شد کاهش نسبت Fv/Fm با افزایش کادمیم از سطح یک میلی گرم به پنج و ده میلی گرم بر کیلوگرم خاک گزارش شد. پژوهشگران فوق برای ژنوتیپ‌های حساس کاهش بیشتری در نسبت Fv/Fm به ازای افزایش کادمیم را گزارش کردند (۳۶). با این حال میپاپازوگلو و همکاران (۲۸) به عدم تاثیر غلظت کادمیم تا سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بر میزان فلورسانس گیاه *Arundo donax* اشاره کرد.

### فتوسنتز خالص

نتایج جدول تجزیه واریانس در گیاه بادرنجبویه، اثر کادمیم را بر نرخ فعال فتوسنتز در سطح ۱درصد و اثر سرب را بر این فاکتور در سطح ۵ درصد معنی‌دار نشان داد. این در صورتیست که حضور همزمان کادمیم و سرب باهم در محیط کشت گیاه، اثر معنی‌داری بر نرخ فعال فتوسنتز نداشته است (جدول ۱).

کادمیم، در محیط کشت بادرنجبویه، منجر به کاهش ۲۶ درصدی فتوسنتز از شاهد (۱۶/۲۷) به غلظت ۲۴ (۱۲) شده است. این در حالیست که تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۶ کادمیم و شاهد وجود نداشت ($P>0.05$). همچنین، سرب در محیط کشت بادرنجبویه باعث کاهش ۱۴ درصد در سرعت فتوسنتز از شاهد به غلظت ۴۵۰ شده است (جدول ۲).

کاهش در نرخ خالص فتوسنتزی نشان دهنده‌ی بالا بودن دی اکسید کربن در اتاقک زیر روزنه‌ای بوده و یا می‌تواند به دلیل بالا بودن تنفس گیاه بوده باشد که عموما در گیاهانی که تحت تنش عناصر سنگین هستند، رخ می‌دهد (۳۹). کاهش Pn به همراه افزایش فلزات سنگین که در مطالعه حاضر مشاهده شد، با ی روی لوبیا تحت تاثیر منگز (۴۶) مطابقت داشت. اسکورزینسکا و بازینسکی (۴۵) گزارش مشابهی، کاهش فتوسنتز تحت تنش عناصر سنگین را مربوطه به تاثیر این عناصر بر واکنش‌های تاریکی در گیاه دانسته‌اند. بااینحال میلادینوا و همکاران (۳۰) افزایش نرخ فعال فتوسنتز را در دو لاین از کالوس درخت پلونیا گزارش کرده است.

نتایج پژوهشی بر روی خیار نشان داد که در غلظت کادمیم ۵۰ میکرو مولار، کاهش معنی‌داری نسبت به کادمیم ۲۰ میکرومولار، در میزان فتوسنتز وجود داشته و کاهش ایجاد شده در غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار سرب، منتج به کاهش Pn، به کمتر از کادمیم ۵۰ میکرومولار و بیشتر از کادمیم ۲۰ میکرومولار شده است (۱۱). این نتایج حاکی از سمیت بیشتر کادمیم نسبت به سرب است و در نهایت اثر منفی بیشتر آن، که تایید کننده‌ی نتایج مطالعه‌ی حاضر است.

### تعرق

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تعرق گیاه بادرنجبویه تحت تاثیر، اثر ساده کادمیم و سرب قرار گرفت ($P>0.01$). اما در زمان بروز اثر متقابل دو عنصر کادمیم و سرب در گیاه، تفاوت معنی داری ثبت نشده است (جدول ۱).

بررسی نتایج مقایسه میانگین در حضور کادمیم در محیط، کاهش ۳۱ درصد میزان تعرق در غلظت ۲۴ به نسبت شاهد بادرنجبویه نشان داد. همچنین در حضور سرب در محیط، از غلظت ۴۵۰ سرب به نسبت شاهد، حدود ۲۲ درصد کاهش گزارش شده است (جدول ۲).

کاهش تعرق تحت فعالیت غلظت‌های مختلف عناصر کادمیم و سرب و روی، در درخت پالونیا *Paulownia tomentosa* مشاهده شده است. این کاهش تعرق در کادمیم بیشتر از سرب و روی، گزارش شده است (۳۰). مطالعات بر روی سویا نشان داد که سمیت سرب باعث القاء تغییرات هیستولوژیک[1] در برگ‌ها شده که برگ‌ها نازکتر شده و تعرق کمتر می‌شود. همچنین آوندهای چوب و آبکشی در دستجات آوندی کوچک شده و قطر آوندهای چوبی کاهش می‌یابد (۱۷).

اثرگذاری عناصر سنگین بر تعرق گیاه به نوع یون فلزی، غلظت عنصر سمی، مرحله‌ی رشدی گیاه، ترکیب عناصر در محیط کشت (آنتاگونیستی و سینرژیستی) و نوع تغذیه گیاه بستگی دارد (۱۰).

---

1- *Histologic*

**مالون دی آلدهید**

بررسی نتایج تجزیه‌ی واریانس نشان داد که کـادمیم و سـرب (۱ درصد) و اثر متقابل کادمیم و سرب (۵ درصد) میزان مالون دی‌آلدهید را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۱).

با افزایش میزان غلظت کادمیم از سطح صفر به ۲۴ میلی‌گـرم در کیلوگرم خاک، میزان مالون دی آلدهید که معیاری از فروپاشی غشای داخلی گیاه است، از ۳۰/۶۷ به ۵۷/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه رسید. همچنین در شرایط حضور سرب در محیط بـا افـزایش غلظـت سرب در محیط از ۰ تا ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک میـزان مـالون دی آلدهید از ۳۶/۰۵ به ۴۹/۴۴ میکرومول بر گرم وزن تر گیاه رسید. (جدول ۲). به نظر می‌رسد کادمیم بیش از سرب توانسته است میـزان مالون دی آلدهید را تحت تاثیر قرار دهد. نتایج حاصل از عملکرد گیاه نیز گویای این واقعیت بود.

افزایش تنش با ایجاد تغییر در اسیدهای چرب غیراشباع بر ساختار و ویژگی‌های غشاء سلولی اثر گذاشته و باعث افزایش ایجـاد رادیکـال های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها و تراوایی غشاء سلولی و در نتیجـه تراوایـی اسـمولیت هـا در گیاهـان حسـاس مـی‌شـود (۴۷). برخـی پژوهشگران محتوی MDA را به عنوان یک بیو مارکر می‌شناسند که میتواند نشانگر تنش عناصر سنگین باشد (۵۳). نتایج یانگ و همکاران (۵۱) نشان داد که متناسب با افزایش غلظت کادمیم از صـفر تـا ۵۰۰ میکرومـولار در محلـول غـذایی، افـزایش معنـی‌داری ($P>0.05$) در محتـوی مـالون دی آلدهیـد در گیـاه *Koelreuteria paniculata* مشاهده شد. در مطالعه حاضر نیز همراه با افزایش میـزان مـالون دی آلدهید کاهش عملکرد گیاه مشاهده شده است (شکل ۴).

نتایج پژوهشی در گیـاه *Pogonatherum crinitum* نشـان داد که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم سرب حـداکثر MDA وجـود داشته و در غلظت‌های بالاتر یعنی ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ کاهش پیدا کرده و از شاهد هم کمتر شده است. البته دلیل این اتفاق را فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی SOD و POD، در غلظت های بالاتر سـرب دانسـته است (۴۹). با این‌حال این پژوهش با نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضـر هماهنگ نبود.

در مطالعه حاضر اثر متقابل کادمیم و سـرب در گیـاه بادرنجبویـه نشان می‌دهد که بیشترین مقدار ثبـت شـده بـرای صـفت مـذکور در غلظت ۲۴ کادمیم و ۴۵۰ سرب و ۲۴ کادمیم و۳۰۰ سرب بـه ترتیـب با مقادیر ۶۱/۲۰ و ۵۹/۷۱ بوده و کمترین آن در غلظـت ۶ کـادمیم و ۱۵۰ سرب با مقدار ۲۸/۳۲ بدست آمده است (شکل ۴).

در بررسی که بر روی توت فرنگی انجـام شـد، بیشـترین میـزان مالون دی آلدهید در زمان حضور حداکثری غلظت‌هـای دو عنصـر در محیط مشاهده شد (۵۱). این نتایج با تحقیقـی دیگـر کـه بافیـل (۷) روی شاهی و ونگ و همکارن (۴۸) روی باقلا انجام دادنـد، مطابقـت داشته که خود تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است.

**پرولین**

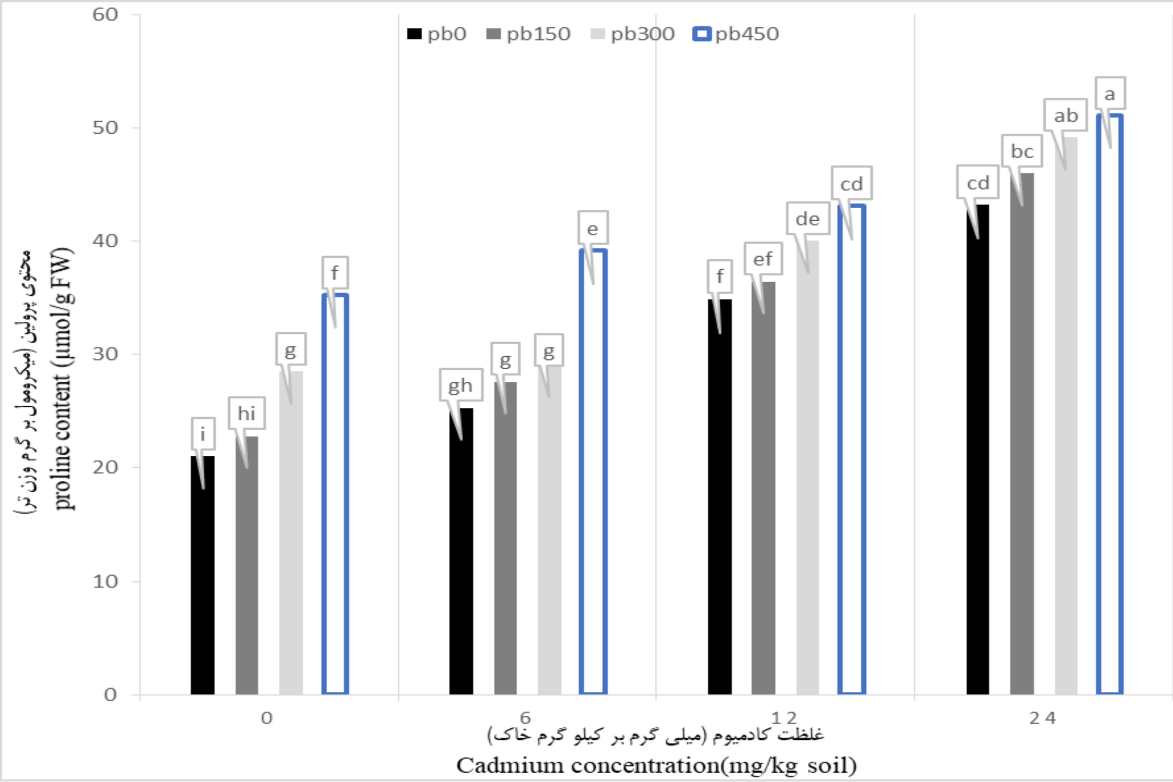
مقدار پرولین تحت تاثیر اثر ساده‌ی کادمیم، سـرب و اثـر متقابـل دوعنصر در سطح احتمال ۱درصـد قـرار گرفـت (جـدول ۱). محتـوی پرولین در گیاه تحت فعالیت و حضور عناصر در خاک قرار گرفتـه، بـه گونه‌ای که در حضور کـادمیم و سـرب در خـاک بـا افـزایش غلظـت کادمیم از شاهد به ۶، ۱۲و ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، پرولین بـه ترتیب ۱۲ درصد و ۴۰ درصد و ۷۶درصد افزایش یافته، همچنـین در حضور سرب در خاک، با افزایش غلظت سرب، از شاهد به ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، پرولین به ترتیب ۰/۰۶ و ۱۷ و ۳۵ درصد افزایش یافته است، که حاکی از تاثیر بیشتر کادمیم نسـبت بـه سرب بر محتوی پرولین گیاه است (جدول ۲).

در بررسی اثر متقابل عناصر همانطور کـه در نمـودار ۴ مشـاهده می‌شود، بیشترین میزان پرولین مربوط به غلظـت ۲۴ کـادمیم و ۴۵۰ سرب با مقدار ۵۱/۰۴ بوده و کمترین میـزان پـرولین نیـز مربـوط بـه ترکیب غلظت ۶ کادمیم و۱۵۰ سـرب و ۶ کـادمیم و ۳۰۰ سـرب، بـه ترتیب با مقادیر ۲۷/۶۰ و ۲۹/۰۴ میکرو مول بر گرم وزن تر گیاه است (شکل ۳).

پرولین یک آمینو اسید است کـه معمـولا در شـرایط وجـود یـک استرس در گیاهان تجمع می‌یابد (۲). پژوهش‌های اخیر نشان داده که با افزایش غلظت سرب از صفر به ۵۰۰ پی‌پـی‌ام، محتـوی پـرولین در گیاه *Spinacea oleracea* افزایش یافته و این افزایش توسط سرب نسبت به کبالت و روی، بیشتر است (۱۸). افزایش پرولین متناسب بـا افزایش سرب و کادمیم در پژوهش‌هایی بـر روی لوبیـا (۲۷) و گوجـه فرنگی (۱۳) تایید کننده‌ی نتایج مطالعه حاضر است.

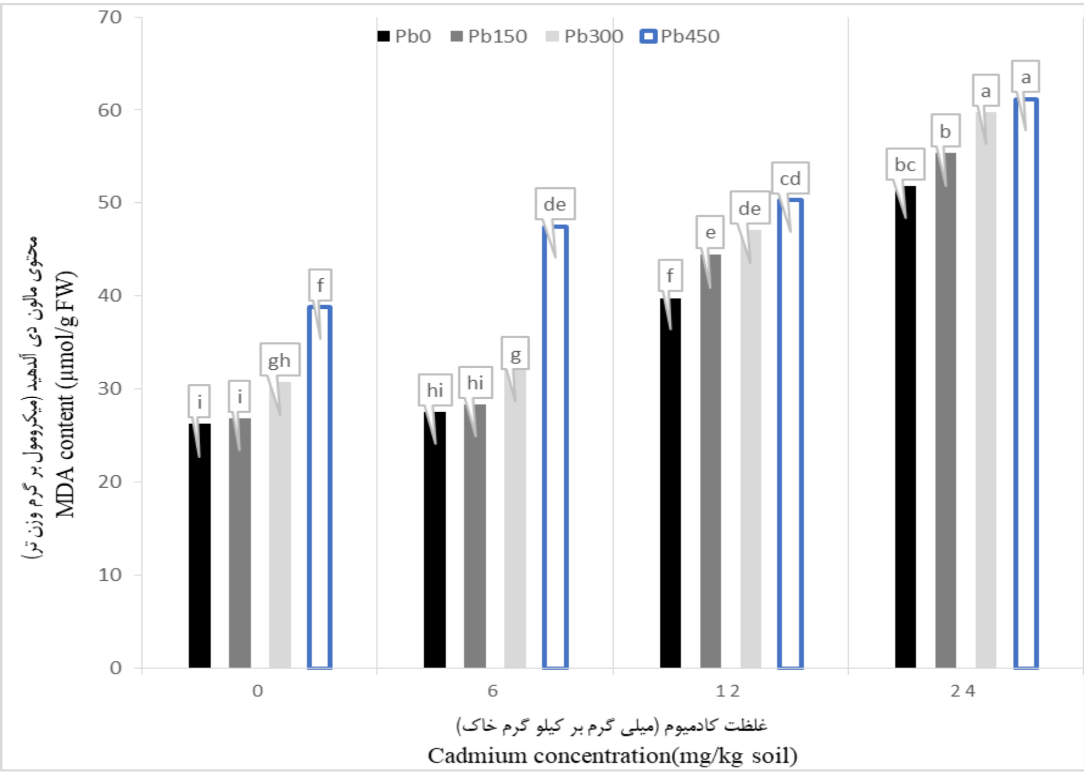
در پژوهشـی کـه دژبـان و همکـاران (۱۴) بـر گیـاه *Robinia pseudoacacia* انجام دادند، محتوی پرولین در تمامی غلظـت‌هـای سرب و کادمیم یعنی ۰،۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بـر لیتـر تغییر معنی‌داری را نشان نداد.

در نهایت می‌توان اینگونه بیان کرد که پرولین، با وجود اینکـه در گیاه به عنوان یک محافظ اسمزی و یک آنتی اکسیدانت و یک کلاته کننده‌ی فلز و تنظیم کننده در گیاه شناخته می‌شود، اما فعالیـت آن در برابر هر عنصر و در هر گیاه در جهت رفع مسمومیت ناشی از حضـور فلز، متفاوت است و می‌تواند به عنوان یـک مکانیسـم دفـاعی خـاص یک گیاه محسوب شود (۴۲).




شکل ۳- اثر متقابل کادمیم × سرب بر میزان پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر) برگ گیاه بادرنجبویه

**Figure 3- Interaction effect of Cd ×Pb on Prolin content (µmol.g$^{-1}$ FW) of lemon balm leaf (LSD, *p≤0.01*)**




شکل ٤- اثر متقابل کادمیم × سرب بر میزان مالون دی آلدهید (میکرومول بر گرم وزن تر) برگ گیاه بادرنجبویه

**Figure 4- Interaction effect of Cd ×Pb on MDA content (µmol.g$^{-1}$ FW) of lemon balm leaf (LSD, *p≤0.05*)**

### غلظت کادمیم و سرب در اندام هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده کادمیم و سرب و اثر متقابل کادمیم و سرب بر صفت غلظت و غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه گیاه بادرنجبویه در سطح ۱درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). با افزایش غلظت عناصر سرب و کادمیم در محیط کشت، غلظت آن در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته به طوری‌که با افزایش غلظت کادمیم از ۶ به ۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، غلظت کادمیم در اندام هوایی ۱۸۳ درصد افزایش یافت. این افزایش برای ریشه ۲۰۷ درصد گزارش شد (جدول ۲). همچنین بررسی نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت سرب در محیط کشت گیاه از ۱۵۰ به ۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک، غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه به ترتیب ۲۳۶ و ۲۱۳ درصد افزایش یافت (جدول ۲). به نظر می‌رسد با افزایش کادمیم تمایل به افزایش جذب کادمیم در ریشه بیش از اندام هوایی است ولی دو قسمت ریشه و اندام هوایی به یک میزان جذب سرب را افزایش داده‌اند. مقدار کادمیم و سرب موجود در گیاهان بستگی به میزان کادمیم و سرب در بستر کشت و توانایی جذب این عناصر توسط گیاهان دارد (۴).

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که اغلب فلزات تمایل دارند که در قسمت ریشه گیاهان باقی بمانند (۳). در بیشتر موارد غلظت عناصر سنگین در ریشه بیشتر از اندام هوایی است. در مطالعه حاضر نیز بیشترین غلظت کادمیم اندام هوایی و ریشه در غلظت ۲۴ میلی‌گرم کادمیم بر کیلوگرم خاک مشاهده شد و بر اساس مقادیر اندازه‌گیری شده، غلظت این عنصر در ریشه بیش از بخش هوایی بود (جدول ۳). برای عنصر سرب نیز بیشترین غلظت این عنصر در اندام هوایی و ریشه مربوط به غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک بود. با این حال برخی مطالعات نشان داده که مقدار تجمع در اندام هوایی، به ویژه برگ و ساقه، بیشتر از سایر اندام‌ها بوده و در دانه بسیار کمتر از برگ و ساقه می‌باشد (۵۰). حضور بیشتر سرب در ریشه به نسبت اندام هوایی می‌تواند به دلیل تحرک بسیار کم سرب در خاک باشد که در بیان رفتار فیزیولوژی عنصر، کم تحرکی شدید آن نسبت به کادمیم ذکر شده است (۲۰).

این نتایج با نتایج آزمایشات انجام شده بر گیاه گندم *Triticum aestivum* (۹) و بر گیاه ترتیزک خوک *Coronopus didymus* (۴۴) تایید کننده‌ی نتایج آزمایشات حاضر است.

به طور کلی افزایش یا کاهش عناصر در گیاه، می‌تواند به دلیل روابط آنتاگونیستی و سینرژیستی آن‌ها در محیط باشد، به عنوان مثال روابط سینرژیستی روی و کادمیم در غلظت‌های پایین کادمیم و آنتاگونیستی همین عناصر در غلظت بالای کادمیم که در گیاه اسفناج گزارش شد (۱۵)، همچنین از دیدگاه ناصر و همکاران (۳۲) می‌تواند تحت تاثیر شرایط خاک، گونه‌ی گیاهی و یا نوع فلز قرار گیرد.

بررسی اثر متقابل دو عنصر، نشان داد که حداکثر غلظت کادمیم در اندام هوایی و ریشه گیاه، در زمان عدم حضور سرب در محیط و حضور حداکثری کادمیم (۰-۲۴) بوده و کمترین آن در در غلظت ۶ کادمیم و ۴۵۰ سرب مشاهده شد (شکل ۳ و ۴). همچنین نشان داد که حداکثر غلظت سرب در اندام هوایی و ریشه، در زمان عدم حضور کادمیم در محیط و حضور حداکثری سرب (۰-۴۵۰) بوده و کمترین آن در غلظت ۲۴ کادمیم و ۱۵۰ سرب مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد اثر بازدارندگی کادمیم در جذب سرب در اندام هوایی و ریشه، در سطح بالاتر کادمیم بیشتر است و بالعکس. در سطح بالای سرب (۴۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کادمیم از غلظت ۶ میلی‌گرم بر کیلو گرم، گیاه را به سمت جذب کمتر سرب هدایت کرده است. در حالی که در سطح پایین سرب (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، بین غلظت های ۰ و ۶ و ۱۲ کادمیم، تفاوت معنی‌داری به لحاظ غلظت سرب در بخش هوایی و ریشه وجود نداشت (جدول ۳).

بررسی‌ها نشانگر این بوده که ترکیب دو عنصر در محیط کشت گیاه، منجر به ایجاد اثر متقابل (سینرژیستی یا آنتاگونیستی) دو عنصر می‌شود که در این مطالعه اثر پیچیده آنتاگونیستی حاکم بوده و البته برخی دیگر بر این عقیده اند که اثر متقابل دو عنصر، علاوه بر ایجاد جذب رقابتی بین دو عنصر، باعث پیچیده شدن فرایند کلاته کردن و تغییرات شدید در فعالیت آنزیمی می‌شود (۲۵).

### فاکتور انتقال کادمیم در بادرنجبویه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که فاکتور انتقال کادمیم و سرب در گیاه بادرنجبویه، در اثر ساده کادمیم و اثر ساده سرب و اثر متقابل دو عنصر کادمیم و سرب در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین مقدار فاکتور انتقال کادمیم ثبت شده در اثر ساده کادمیم، مربوط به غلظت ۶ کادمیم بود. همچنین بیشترین مقدار این پارامتر در اثر ساده سرب، در غلظت ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم سرب بر کیلوگرم خاک گزارش شده است (جدول ۲).

فاکتور انتقال کادمیم از ریشه به اندام هوایی تحت تاثیر اثر متقابل کادمیم و سرب قرار گرفت ($P>0.05$). بیشترین مقدار ثبت شده برای فاکتور انتقال در بادرنجبویه تحت تیمار اثر متقابل سرب و کادمیم در تیمار ۱۲ کادمیم و ۴۵۰ سرب بوده و کمترین آن در تیمار ۶ کادمیم و صفر سرب گزارش شده است (شکل ۵). حضور کادمیم در محیط نیز منجر شد که بیشترین فاکتور انتقال سرب، در حضور کادمیم در تیمار ۲۴ کادمیم ثبت شود (جدول ۲).

اثر متقابل کادمیم و سرب نشان داد، در زمانی که سرب در محیط وجود دارد، کمترین‌های فاکتور انتقال گزارش شده و بیشترین آن مربوط به عدم حضو سرب در محیط بود (شکل ۵). فاکتور انتقال (TF) به عنوان یک پارامتر مهم و کلیدی، برای تعیین میزان تجمع عنصر سنگین در گیاه حساب می‌شود (۳۷).

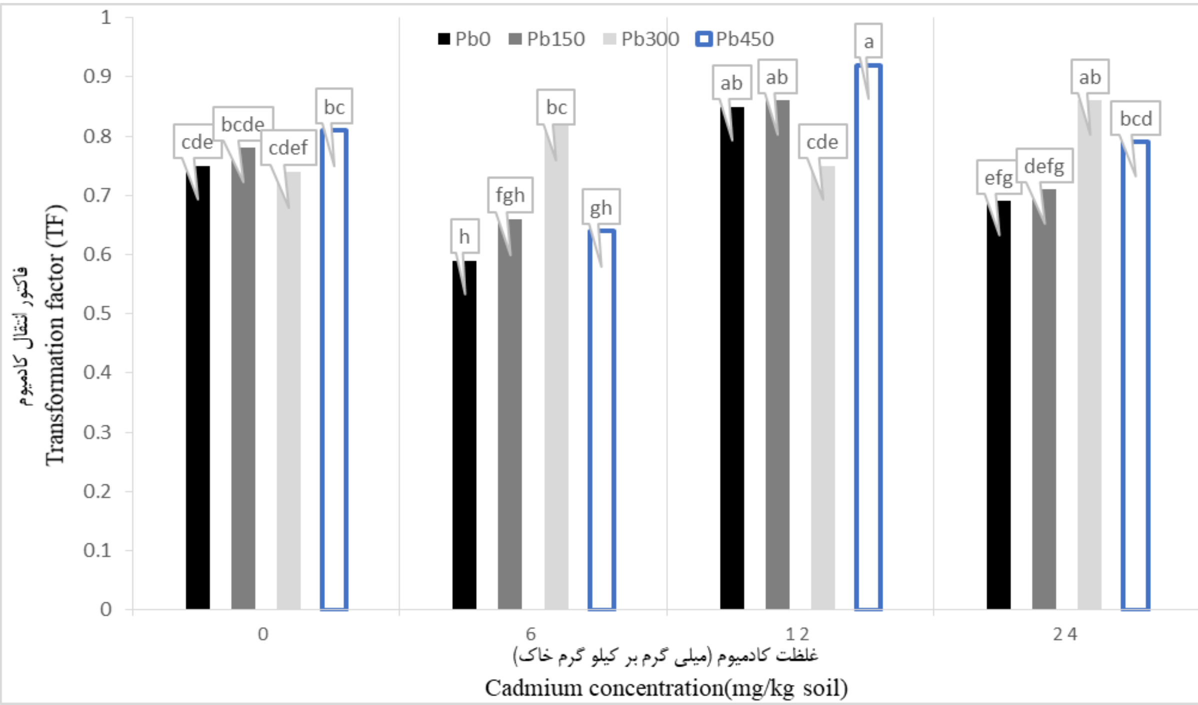
**جدول ۳- اثرات متقابل سرب × کادمیم بر صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه بادرنجبویه**

**Table 3- Interaction effect of Cd ×Pb on morphophysiological traits of lemon balm.**

| کادمیم Cd (mg.kg$^{-1}$ soil) | سرب Pb (mg.kg$^{-1}$soil) | غلظت کادمیم در اندام هوایی Shoot Cd concentration (µg.g$^{-1}$ biomass) | غلظت کادمیم در ریشه Root Cd concentration (µg.g$^{-1}$ biomass) | فاکتور انتقال کادمیم TF(Cd) | غلظت سرب در ریشه Root Pb concentration (µg.g$^{-1}$ biomass) | غلظت سرب در اندام هوایی Shoot Pb concentration (µg.g$^{-1}$ biomass) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 1$^{g}$ | 2.1$^{k}$ | 0.75$^{cde}$ | 4.3$^{g}$ | 3.1$^{i}$ |
| | 150 | 1$^{g}$ | 2.01$^{k}$ | 0.78$^{bcde}$ | 101$^{e}$ | 19.2$^{fg}$ |
| | 300 | 0.9$^{g}$ | 1.87$^{k}$ | 0.74$^{cdef}$ | 256$^{bc}$ | 37.2$^{d}$ |
| | 450 | 0.9$^{g}$ | 1.71$^{k}$ | 0.81$^{bc}$ | 312$^{a}$ | 68.2$^{a}$ |
| 6 | 0 | 7.14$^{e}$ | 18.98$^{h}$ | 0.59$^{h}$ | 4.3$^{g}$ | 3$^{i}$ |
| | 150 | 7.02$^{e}$ | 17.05$^{hi}$ | 0.66$^{fgh}$ | 0.8297$^{ef}$ | 17.36$^{fgh}$ |
| | 300 | 6.91$^{e}$ | 14.34$^{ij}$ | 0.82$^{bc}$ | 249$^{c}$ | 33.98$^{de}$ |
| | 450 | 4.16$^{f}$ | 11.84$^{j}$ | 0.64$^{gh}$ | 299$^{a}$ | 60.28$^{b}$ |
| 12 | 0 | 16.87$^{b}$ | 34.05$^{e}$ | 0.85$^{ab}$ | 4.1$^{g}$ | 3$^{i}$ |
| | 150 | 16.11$^{b}$ | 31.21$^{f}$ | 0.86$^{ab}$ | 86$^{ef}$ | 15.22$^{gh}$ |
| | 300 | 12.13$^{c}$ | 27.23$^{g}$ | 0.75$^{cde}$ | 221$^{d}$ | 29.77$^{e}$ |
| | 450 | 10.26$^{d}$ | 22.28$^{h}$ | 0.92$^{a}$ | 274$^{b}$ | 49.3$^{c}$ |
| 24 | 0 | 21.33$^{a}$ | 56.45$^{a}$ | 0.69$^{efg}$ | 3.7$^{g}$ | 2.6$^{i}$ |
| | 150 | 17.18$^{a}$ | 49.14$^{b}$ | 0.71$^{defg}$ | 78$^{f}$ | 12.35$^{h}$ |
| | 300 | 17.02$^{a}$ | 44.76$^{c}$ | 0.86$^{ab}$ | 201$^{d}$ | 21.47$^{f}$ |
| | 450 | 15.96$^{a}$ | 41.03$^{d}$ | 0.79$^{bcd}$ | 252$^{c}$ | 38.11$^{d}$ |

برای هر تیمار، حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD نمی‌باشد.

For each treatment, column means with the same letter are not significantly different by LSD test ($P < 0.05$)




**شکل ۵- اثر متقابل کادمیم × سرب بر فاکتور انتقال در گیاه بادرنجبویه**

**Figure 5- Interaction effect of Cd ×Pb on Transformation factor (TF) in lemon balm (LSD, *p≤0.05*)**

در تحقیقی، برخی از سبزی‌ها شامل تربچه تحت آبیاری با پساب حاوی عناصر سنگین، دارای فاکتور انتقال از خاک به گیاه، بیشتر از یک برای کادمیوم بودند که نشان‌دهنده تحرک زیاد کادمیوم می‌باشد. در حالی که مقدار فاکتور انتقال برای سرب بسیار کم بود (۲۰).

علاوه بر این در پژوهشی ارتباط بین میزان کادمیم در خاک و جذب توسط ریشه و انتقال آن به اندام هوایی در چهار گیاه صیفی توسط کاشیف و همکاران نیز با یافته‌های آزمایش حاضر هماهنگ است (۲۳).

## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه به طور کلی نشان داد که کاهش فاکتورهایی مانند وزن خشک گیاه، میزان فتوسنتز، فلورسانس کلروفیل، تعرق و پروتئین و همچنین افزایش مالون دی آلدهید و پرولین نشانه‌های از سمیت کادمیم و سرب هستند. البته به دلیل تحرک بیشتر کادمیم در گیاه نسبت به سرب، سمیت حاصل از آن بیش از سرب بود. همچنین نتایج موجود حکایت از رابطه آنتاگونیستی دو عنصر مورد مطالعه دارد. بطوری‌که افزایش سرب توانست از میزان سمیت کادمیم بکاهد و همچنین افزایش کادمیم در محیط میزان سمیت سرب را کم کرد. بااینحال اثر بازدارندگی سرب بر سمیت کادمیم بیشتر بود.

همچنین نکته قابل تامل در این مطالعه افزایش درصد اسانس به ازای افزایش غلظت عناصر سنگین در محیط و همچنین عدم حضور کادمیم و سرب در اسانس بادرنجبویه بود که این مسئله گیاه مذکور را به عنوان کاندیدای مناسب جهت کشت در مناطق آلوده برای تولید محصول سالم معرفی می‌کند. با اینحال رسیدن به این نتیجه قطعی نیازمند مطالعات و بررسی‌های بیشتر است.

## منابع


1- Abdel-Salam A.A., Salem H.M., and Seleiman M.F. 2015. Phytochemical Removal of Heavy Metal -Contaminated Soils. Heavy Metal Contamination of Soils. Springer International Publishing. 299-309.

2- Ahamed M., and Siddiqui M.K. 2007. Low level lead exposure and oxidative stress. Clinica Chimica Acta 383: 57-64.

3- Ali A., Deng X., Hu X., Gill R.A., Ali S., Wang S., and Zhou W. 2015. Deteriorative effects of cadmium stress on antioxidant system and cellular structure in germinating seeds of *Brassica napus* L. Journal of Agricultural Science and Technology 17: 63-74.

4- Alinezhad Jahromi H., Mohamadkhani A., and Salehi H. 2012. The Effect of Using Urban Wastewater of ShahreKord on Growth, Yield and Accumulation of Lead and Cadmium in Medicinal Plant Lemon Balm (*Melissa officinalis*). Water and Soil Science 16(60): 32-41

5- Alloway B. 1990. Heavy metals in soils. Blakie and Sons Ltd. London. Pp: 1-53.

6- Anusha W.A., Wickramasinghe d.l., and Valentine B.R. 2017. The effects of heavy metal concentration on bio-accumulation. Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences 22(1): 1-8.

7- Bafeel S. 2010. Physiological and biochemical aspects of tolerance in *Lepidium sativum*, to lead toxicity. Egyptian Society for Environmental Sciences 5(1): 1-7.

8- Baker A.J.M., and Brooks R.R. 1989. Terrestrials higher plants which hyper accumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-26.

9- Boussen S., Soubrand M., Bril H., Ouerfelli K., and Abdeljaouad S. 2013. Transfer of lead, zinc and cadmium from mine tailings to wheat (*Triticum aestivum*) in carbonated Mediterranean (Northern Tunisia) soils. Geoderma 192: 227-236.

10- Broadley M.R., White P.J., and Hammond J.P. 2007. Zinc in plants. New Phytolgy 173: 677-702.

11- Burzynski M., and Klobu G. 2004. Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress. Photosynthetica 42(4): 505-510.

12- Cosge B., Ipek A., and Gurbuz B. 2009. GC/MS analysis of herbage essential oil from lemon balms (*Melissa officinalis* L.) grown in Turkey. Journal of Applied Biological Sciences 3(2): 136-139.

13- De B., and Mukherjee A.K. 1998. Mercury induced metabolic changes in seedlings and cultured cells of tomato. Geobios 23: 83-88.

14- Dezhban T.A., Shirvany A., Attarod P., Delshad M., Matinizadeh M., and Khoshnevis M. 2015. Cadmium and lead effects on chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline of *Robinia pseudoacacia*. Journal of Forestry Research 26(2): 323–329.

15- Dotaniya M.L., Rajendiran S., Vassanda M., Coumar V.D., Meena J.K., Saha S., Kundu A., and Kumar A. K. 2017. Interactive effect of cadmium and zinc on chromium uptake in spinach grown in Vertisol of Central India. International Journal of Environmental Science and Technology 15(1): 462-477.

16- Eisazadeh L, S., Asadi S., and Homaee M. 2015. Phytoextraction and estimating optimal time for remediation of Cd-contaminated soils by spinach (*Spinacia oleracea* L.). Journal of Agroecology 4(2): 916-926. (In Persian)

17- Elzbieta W.C., and Chwil M. 2005. Lead-induced histological and ultra structural changes in the leaves of soybeen (*Glycine max* (L) Meee.). Soil Sciences and Plant Nutrition 51: 203-212.

18- Geetha S.M., Sandeep A., and Gharge S. 2018. Effect of metal on germination and proline accumulation in *Spinacia olerci*. International Journal of Current Research in Life Sciences 7(3): 1376-1380.

19- Ghani A. 2010. Effect of cadmium toxicity on the growth and yield components of mungbean World Applied Sciences. Special Issue of Biotechnology and Genetic Engineering 8: 26-29.

20- Gupta S., Satpati S., Nayek S. and Garai D. 2010. Effect of wastewater irrigation on vegetables in relation to bioaccumulation of heavy metals and biochemical changes. Environmental Monitoring and Assessment, 165: 169-177.

21- Heath R.L., and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics

22- Hussein F.H., Khalife R.K.M., El-Mergawi R.A., and Youssef A.A. 2006. Utilization of Treated Municipal 342. P

23- Kashif S.R., Akram M., Yasee M., and Ali S. 2009. Studies on heavy metals status and their uptake by vegetables in adjoining areas of Hudiara drain in Lahore. Soil Environmental 28: 7-12.

24- Khan S., and Khan N.N. 1983. Influence of lead and cadmium on the growth and nutrient concentration of tomato (*Lycopersocum esculentum*) and egg plant (*Solanum melongena*). Plant and Soil 74: 387-394.

25- Li W., Mao R., and Liu X. 2005. Effects of stress duration and non toxicions on heavy metals toxicity to Arabidopsis seed germination and seedling growth. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 16:1943-7.

26- Lim J.M., M., Salido A.L., and Butcher D.J. 2004. Phytoremediation of lead using Indian mustard (*Brassica Juncea*) with EDTA and electrodics. Microchemical Journal 76: 3-9

27- Lippia H.B.K., Metwally A., Safronova V.I., Belimov A.A., and Dietz K.J. 2008. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in Pisum sativum. Journal of Experimental Botany 56: 167.

28- Mipapazoglou M. 2009. Foresight and research priorities for service oriented computing, in: Proceedings of the 11th International Conference on Enterprise Information Systems, Milan, Italy, pp. 5–6

29- Maxwell K., and Johnson G.N. 2005. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal of Experimental Botany 51: 659-668.

30- Miladinova K., Markovska Y., Tzvetkova N., Ivanova K., Geneva M., and Georgieva T. 2014. Photosynthesis and growth response of two Paulownia hybrid lines to heavy metals Cd, Pb and Zn. Silva Balcanica 15: 83-99.

31- Moya J.L., Ros R., and Picazo I. 1993. Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. Photosynthesis Research 36: 75-80.

32- Naser H.M., Shil N.C., Mahmud N.U., Rashid M.H. and Hossain K.M. 2009. Lead, cadmium and nickel contents of vegetables grown in industrially polluted and non-polluted areas of Bangladesh. Bangladesh Journal of Agrilcultural Research 34(4): 545-554.

33- Omidbeigi R. 2008. Production and processing of medicinal plants. Volume Three, Astan Quds Razavi Publications. (In Persian)

34- Pinto D., Fernandes A., Fernandes R., Mendes I., Pereira S., Vinha A., Herdeiro T., Santos E., and Machado M. 2011. Determination of heavy metals and other indicators in waters, soils and medicinal plants from Ave Valley, in Portugal, and its correlation to urban and industrial pollution. Science against microbial pathogens. In: A. Méndez-Vilas (ed.), communicating current research and technological advances. Spain. 303-309.

35- Pourghasemian N., Ehsanzadeh P., and Greger M. 2013a. Genotypic variation in safflower (*Carthamus* spp.) cadmium accumulation and tolerance affected by temperature and cadmium levels. Environmental and Experimental Botany 87: 218–226.

36- Pourghasemian N., and Ehsanzadeh P. 2013b. Evaluation of antioxidative responses to cadmium contamination of soil and its relationship with some physiological traits in safflower genotypes. Journal of Plant Process and Function 2(3): 15-31. (In Persian)

37- Puschenreiter M., and Horak O. 2000. Influence of different soil parameters on the transfer factor soil to plant of Cd, Cu and Zn for wheat and rye. Die Bodenkulture 51(1): 3-10.

38- Rai V., Vajpayee P., Singh S.N., and Mehrotra S., 2004. Effect of chromium accumulation on photosynthetic pigments, oxidative stress defense system, nitrate reduction, prolin level and eugenol content of *Ocimum tenuiflorum* L. Plant Science 167: 1159-1169

39- Romanowska E., Igamberdiev A., Parys E., and Gardestron P. 2002. Stimulation of respiration by $Pb^{2+}$ ions in detached leaves and mitochondria of $C_3$ and C4 plants. Plant Physiology 116: 148-154.

40- Sanita di Toppi L., and Gabbrielli R. 1999. Response to cadmium in higher plants. Environmental and Experimental Botany 41: 105-130.

41- Scavroni J., Sivia Fernandes Boaro C., Ortiz Mayo Marques M., and Cesar Ferreira L. 2005. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. Brazilian Journal of Plant Physiology 17(4): 345-352.

42- Sharma S.S., and Dietz K.J. 2006. The significance of amino acids and amino acid derivedmolecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress, Journal of Experimental Botany 57: 711–726.

43- Shomali R., and khodaverdilo H. 2011. Contamination of Soils and Plants along Urmia-Salmas Highway (Iran) to Some Heavy Metals, Journal scince of water and soil. Volume 22, number 3.

44- Sidhu G.P., Singh H.P., Batish D.R., and Kohli R.K. 2017. Tolerance and hyperaccumulationof cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) sm. (Brassicaceae). Ecotoxicology Environmental Safety 135: 209-215.

45- Skórzyńska-Polit E., and Baszyński T. 1997. Diferences in sensitivity of the photosynthetic apparatus in Cd-stressed runner bean plants in relation to their age. Plant Science. 128: 11-21.

46- Subrahmanyam D., and Rathore V.S. 2000. Influence of manganase toxicity on photosynthesis in ricebean (*Vigna umbellata*) seedlings. Photosynthetica 38: 449-453.

47- Turkan I., Bor M.O., zdemir F., and Koca H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.

48- Wang C., Tian Y., Wang X., Geng J., Jiang J., and Yu H. 2010. Lead-contaminated soil induced oxidative stress, defense response and its indicative biomarkers in roots of *Vicia faba* seedlings. Ecotoxicology 19: 1130–1139.

49- Xiaolong H., Hang H., Liping C., Aiqin L., Xiangqing M., Chuifan Z., Guo W., and Fanrui M. 2018. Pb stress effects on leaf chlorophyll fluorescence, antioxidative enzymeactivities, and organic acid contents of Pogonatherum crinitum seedlings. Flora 240: 82–88.

50- Yaghoubian Y., Sayadat A., Moradi M., and Pirdashti H. 2016. Quantitative response of vegetative growth and chlorophyll components of the medicinal plant lemonbalm (*Melissa officinalis* L.) To the concentration of cadmium in the soil. Journal of Plant Production Research Volume 23. Number 2. (In Persian)

51- Yong Z., Hao-Ru T., and Ya L. 2008.Variation in antioxidant enzyme activities of two strawbreey cultivars with shortterm low temperature stress. Journal of Agricultural Sciences 4: 456-462.

52- Žaltauskaitė1 J., Mikalaikevičiūtė1 L., Sujetovienė G., and Miškelytė D. 2017. Evaluation of heavy metals binary metals mixtures toxicity on spring barley Hordeumvulgare. International Conference on Environmental Science and Technology Rhodes, Greece.

53- Zheljazkov V.D., Craker L.E., and Xing B. 2006. Effects of Cd, Pb and Cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint, and basil. Environmental and Experimental Botany 58(1): 9-16.

54- Zheljazkov V.D., and Nielson N.E. 1996a. Effect of heavy metals on peppermint and cornmint. Plant and Soil 178: 59– 66.

55- Zheljazkov V., and Nielsen N.E. 1996b. Studies on the effect of heavy metals (Cd, Pb, Cu, Mn, Zn and Fe) upon the growth, productivity and quality of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill) production. J. Essent. Oil Res 8, 259–274.

56- Zlatev Z., and Yordanov T. 2004. Effect of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. Bulg. Journal of Plant Physiology 30(3-4): 3-18.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 235-251
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۵۱-۲۳۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Investigating the Effect of Cadmium and Lead on Growth Parameters and Quality Characteristics of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.)

**S.M.B. Razavinia[1]- N. Pourghasemian[2*]- F. Najafi[3]**

Received: 25-04-2020
Accepted: 21-02-2021

**Introduction:** Pollution of the biosphere with toxic levels of metals has accelerated dramatically since the beginning of the industrial revolution. Soil pollution by heavy metals including cadmium (Cd) and lead (Pb) is a global problem, which can cause agricultural lands to become hazardous for wildlife and human populations. Accumulated Cd and Pb in their roots and shoots may also be negatively affect their photosynthesis, growth, and reproduction. Cd and Pb uptake and their effects on plants may be influenced by a variety of factors, e.g. the plant species, cultivar, soil characteristics and etc. Heavy metals such as Cd and Pb may cause the formation of reactive oxygen species (ROS), damage plant tissue membranes, and inhibit photosynthesis, carbon dioxide assimilation, and growth. Photosynthesis is the fundamental process of energy metabolism and therefore, closely related to the plants growth and productivity. However, it is a sensitive process and an important target of environmental stresses. Plants counteract the harmful effects of heavy metals by a variety of protective mechanisms including immobilization, exclusion, chelation, compartmentalization, osmotic regulation and elevating antioxidant system.

Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) is a widely grown aromatic and medicinal plant of the Labiatae family. The plant has various therapeutic properties and is also used to flavor different food products due to its particular taste. Little scientific data exist on the response of this medicinal plant to Cd and Pb stress. Therefore, the objective of this work was to investigate the biological and physiological responses of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under cadmium and lead stress conditions.

**Materials and Methods:** A factorial randomized complete block design experiment with four replications was used to study the effect of Cd in four concentrations (0, 6, 12 and 24 mg.kg$^{-1}$ soil) as well as Pb in four concentrations (0, 150 300 and 450 mg. Kg$^{-1}$ soil). Before harvesting, chlorophyll fluorescence, photosynthetic and transpiration rates were measured with fluorescence meter and photosynthetic meter, respectively. Thereafter, plants were harvested and the roots were washed in distilled water. Then, half of the plants were separated into roots and shoots, which were dried at 105 °C for 24 h to determine the dry weight, Cd and Pb concentrations, Cd transfer factor and essential oil content. The other half of the plants were separated into roots and shoots, kept in liquid nitrogen, and then stored in freezer for one week to determine proline and shoot MDA concentrations. Data were subjected to two-way analysis of variance (ANOVA) and the difference between means was compared using LSD test. A significance level of 95% was applied by SAS 9.2.

**Results and Discussion:** According to the results, root and shoot dry weight, protein content, photosynthetic rate, transpiration rate and chlorophyll fluorescence were decreased by increasing Cd and Pb concentrations. However, Cd concentration decreased these traits more than Pb. The shoot MDA concentration, essential oil and proline content were enhanced by increasing Cd and Pb concentrations. The combination of two pollutants (Cd and Pb) together reduces the negative impact of each element alone. Shoot and root Cd and Pb concentrations were increased by increasing Cd and Pb concentrations. The interaction effect of Cd×Pb application showed that increasing Cd concentration decreased root and shoot Pb concentrations and increasing Pb concentration decreased root and shoot Cd concentrations. Cd and Pb were not detected in essential oil. Moreover, the Cd transfer factor was increased with increasing Pb concentration under high Cd concentration levels (12 and 24 mg.kg$^{-1}$).

**Conclusion:** This study demonstrated that Cd toxicity is more than Pb toxicity due to its high mobility.

1 and 3- Master Graduate and Assistant Professor of Department of Agriculture, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti, Tehran, Iran, respectively.
2- Assistant Professor, Department of Plant Productions, Agricultural Faculty of Bardsir, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
(*- Correspondivg Author Email: N.pourghasemian@uk.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61820.0

There was an antagonistic relationship between Cd and Pb. Furthermore, due to the absence of Cd and Pb in the essential oil, lemon balm may be a suitable plant for areas contaminated with heavy metals especial Cd and Pb.

**Keywords:** Chlorophyll fluorescence, Essential oil, Proline, Protein, Transpiration rate

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۶۶-۲۵۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 253-266
ISSN: 2008 - 4730

مقاله پژوهشی

# بهبود تحمل به کم‌آبی با استفاده از کمپوست پسماند شهری در چمن بومی تال فسکیو

محمد سادات فریزنی[1*]- حمیدرضا خزاعی[2]- غلامعلی گزانچیان[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

## چکیده

تحقیق حاضر، با هدف بررسی اثر نسبت‌های اختلاط کمپوست زباله شهری با خاک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی چمن گونه بومی تال فسکیو (*Festuca arundinaceous*) در پاسخ به تنش خشکی در قالب دو آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. در آزمایش اول، بررسی درصد و سرعت سبز شدن چمن در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار صورت پذیرفت که در آن تیمارهای آزمایش شامل ده مقدار مختلف اختلاط کمپوست با خاک (۱۰ تا ۱۰۰ تن در هکتار) و تیمار شاهد (خاک زراعی بدون اختلاط با کمپوست) بود. در آزمایش دوم، سه مقدار برتر کمپوست از آزمایش اول به همراه شاهد بعنوان فاکتور اول و سه سطح تنش رطوبتی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب بعنوان تنش‌های شدید و ملایم و عدم تنش، بعنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند که بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج آزمایش اول نشان داد که مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن درهکتار بواسطه داشتن ظرفیت نگهداری آب بالاتر، سبب افزایش معنی‌دار درصد و سرعت سبز شدن چمن شدند. در آزمایش دوم، با افزایش شدت تنش خشکی در مقادیر مختلف کمپوست، میزان کلروفیل کل کاهش و صفات محتوی نسبی آب گیاه، پرولین و نشت الکترولیت‌ها افزایش پیدا کردند. در تیمار کمپوست ۹۰ تن درهکتار به دلیل توانایی بالای آن در ذخیره آب، انسجام غشاءهای سلولی بیشتر حفظ شد و درک کمتری از تنش صورت گرفت. وزن خشک اندام هوایی نیز تحت تاثیر افزایش شدت تنش خشکی بطور معنی داری کاهش یافت. در مجموع به نظر می‌رسد که کاربرد ۹۰ تن کمپوست در هکتار بطور معنی‌داری در بهبود تحمل به خشکی چمن تال فسکیو موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** چمن، خشکی، کلروفیل و نشت الکترولیت‌ها

## مقدمه

امروزه سرانه فضای سبز شهری به عنوان یکی از شاخص‌های توسعه یافتگی شهرها محسوب می‌گردد و در این بین، چمن به عنوان یکی از اجزاء بسیار مهم فضای سبز شهری تلقی گشته که علاوه بر جنبه زیبایی، به عنوان یک گیاه پوششی که در کاهش آلودگی‌های زیست محیطی موثر است، مطرح می‌شود (۲۷). چمن‌های کاشته شده در کشور عمدتاً از انواع بذور وارداتی بوده که با شرایط خشک و نیمه خشک کشور ما چندان سازگار نیستند و از این نظر، گاهاً محدودیت هایی را به لحاظ تامین نیاز آبی ایجاد می‌نمایند. از این رو، با توجه به منابع آبی محدود در شهر مشهد از یک سو و وجود مساحت بیش از ۴۰۰ هکتار چمن در این شهر از سوی دیگر، تلاش برای رفع این محدودیت را امری ضروری جلوه می‌دهد. یکی از راهکارهای مقابله با این چالش، استفاده از گونه‌ها و ارقام مقاوم به خشکی می‌باشد (۱۲ و ۱۶). این در حالی است که بسیاری از گراس‌های بومی موجود در نقاط مختلف کشور از مقاومت بالایی در برابر تنش خشکی برخوردارند (۱۲) و به نظر می‌رسد که گراس‌های بومی ایران می‌توانند منابع ژنتیکی مناسبی را جهت اصلاح گراس‌ها تحت شرایط تنش خشکی فراهم آورند (۲۵). از جمله این گونه‌ها، گونه تال فسکیو است که از انواع چمن‌های فصل سرد، چند ساله و علفی بوده و در شرایط رشد مطلوب، مقاومت خوبی به پاخوری دارد (۲۰ و ۲۶). این گیاه بواسطه خصوصیاتی همچون داشتن ریشه‌های عمیق‌تر، رنگ تیره‌تر و بافت متراکم‌تر، تا حدی به خشکی مقاوم است (۱۶ و ۳۰). هوانگ و همکاران (۱۷) در مطالعات خود بر روی ارقام بومی تال فسکیو بیان

۱ و ۲- به‌ترتیب فارغ‌التحصیل دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی و استاد گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: mohamad.sf49@gmail.com)
۳- دانشیار بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2021.61803.0

نمودند که قابلیت رشد مجدد ارقام این گیاه پس از سپری شدن دوره تنش خشکی، خوب بوده، بطوری‌که پس از رفع تنش، شاخص سطح برگ آن مجدداً سیر صعودی به خود گرفت. هرچند که به سطح اولیه آن قبل از تنش نرسید.

از دیگر راهکارهای حفظ چمن در شرایط تنش رطوبتی، بهبود ساختمان خاک با هدف افزایش رطوبت ذخیره شده در آن می‌باشد. در همین راستا استفاده از ترکیبات آلی که شرایط فیزیکی و بیولوژیکی خاک را بهبود می‌بخشند (مانند کمپوست پسماند شهری و کود دامی) می‌تواند تاثیرگذار باشد (۳۲). کمپوست از بازیافت بقایای گیاهی و جانوری، زباله‌های شهری و لجن فاضلاب به دست می‌آید (۱ و ۳۱). استفاده از کمپوست، ساختمان خاک را ارتقاء داده، محتوی مواد معدنی خاک را تقویت کرده و سبب می‌شود تا خاک، رطوبت را برای مدت زمان بیشتری در خود نگه دارد. چرا که کمپوست می‌تواند دو تا شش برابر حجم خود آب نگهداری نموده و از هدر رفتن آن جلوگیری کند (۱، ۲۵ و ۳۱). کمپوست در خاک‌های سنگین، تخلخل خاک را بهبود بخشیده و باعث تهویه بهتر خاک می‌گردد. در خاک‌های سبک نیز مانند اسفنج عمل کرده و با نگهداری آب و مواد غذایی تا حد زیادی از شستشوی آنها جلوگیری می‌کند. ضمن آنکه کاربرد آن در زمینه های مختلف، در کاهش هزینه انتقال و دفن زباله و حمایت از قوانین محیط زیست موثر است. (۱۴). در همین راستا، کاسادوولا و همکاران (۸) تاثیر کاربرد سطوح مختلف کمپوست بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک آهکی در کالیفرنیا را بررسی کرده و به این نتیجه رسیدند که مقدار ماده آلی، نیتروژن کل، فسفر قابل استفاده، هدایت هیدرولیکی و عناصر سنگین، همگی با زیاد شدن مقدار کمپوست مصرف شده افزایش یافت. لی و همکاران (۱۸) نیز نشان دادند که خواص فیزیکی خاک با افزودن مواد آلی (از جمله کمپوست)، متناسب با مقدار ماده آلی افزوده شده بهبود پیدا کرد.

گاهی اوقات ممکن است تنش خشکی در نزدیکی سطح خاک رخ دهد، در حالی که آب به میزان رفع نیاز گیاه، در بخش‌های عمیق‌تر خاک وجود داشته باشد. لکن سطحی بودن ریشه‌های گیاه (از جمله در گیاه چمن) مانع از دسترسی گیاه به رطوبت موجود گردد. در این شرایط، واکنش بخش هوایی برای مقابله با تنش، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۵). لذا این تحقیق با هدف بررسی تاثیر نسبت‌های اختلاط ماده کمپوست زباله شهری با خاک بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی اندام‌های هوایی چمن گونه بومی تال فسکیو در پاسخ به تنش خشکی انجام گردید.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ابتدا برای پیدا کردن بهترین میزان اختلاط کمپوست با خاک در مرحله سبز شدن و تأثیر مقادیر مختلف کمپوست بر درصد و سرعت سبز شدن فستوکا، آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی انجام شد (دمای گلخانه بین ۱۵ تا ۳۵ درجه سانتی گراد متغیر بود). سپس بر اساس نتایج حاصله از آزمایش اول، مقادیر مناسب کمپوست، انتخاب و برای بررسی اثر آنها در شرایط تنش خشکی، به آزمایش دوم آورده شدند. قابل ذکر است که این کمپوست توسط کارخانه کمپوست شهرداری مشهد تولید شده است (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات کمپوست استفاده شده در آزمایش

Table 1- Traits of used compost

| وزن مخصوص ظاهری ʃ $(g.cm^{-3})$ | EC $(dS.m^{-1})$ | pH | C/N |
|---|---|---|---|
| 0.49 | 4.80 | 7.23 | 16.5 |

### آزمایش اول

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ و به منظور تعیین بهترین میزان اختلاط کمپوست زباله شهری با خاک و تأثیر آن بر سرعت و درصد سبز شدن چمن تال فسکیو انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و در گلدان‌های یک کیلویی با قطر دهانه ۱۴۰ و ارتفاع ۱۲۰ میلی‌متر صورت پذیرفت. تیمارهای آزمایش شامل ده مقدار مختلف اختلاط کمپوست با خاک (۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ تن در هکتار) و تیمار شاهد (خاک زراعی بدون اختلاط با کمپوست) بود. مقادیر مختلف اختلاط کمپوست با خاک پس از تبدیل واحد گرم کمپوست بر سانتی‌متر مکعب خاک در گلدان های تهیه شده اعمال گردید. بدین صورت که برای تیمارهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۱۰۰ تن در هکتار به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و۱۰۰ گرم کمپوست به خاک گلدان اضافه گردید. قبل از انجام آزمایش، برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مانند درصد کربن آلی، نسبت C/N و EC به‌طور جداگانه در آزمایشگاه خاک اندازه‌گیری شدند (جدول ۲). بافت خاک نیز از نوع لوم رسی شنی بود.

پس از تهیه نسبت‌های مختلف خاک و کود در داخل هر گلدان، در اوّل خردادماه تعداد ۵۰ عدد بذر کاشته شد و سطح فوقانی آن با یک‌لایه یک سانتی‌متری ماسه پوشانده شد. پس از کاشت تا استقرار کامل گیاه، گلدان‌ها به مدت سه هفته (بیست و یک روز) بصورت روزانه آبیاری شدند.

**جدول ۲- مشخصات خاک محل آزمایش**

**Table 2- Soil traits of experiment location**

| تیمار Treatment | وزن مخصوص ظاهری (g.cm$^{-3}$) | EC (dS.m$^{-1}$) | pH | N (%) | P (%) | K (ppm) | $Na^+$ (ppm) | $Ca^{2+}$ (ppm) | C/N | رطوبت خاک Soil humidity (%) | ماده آلی Organic matter (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد (خاک بدون اختلاط با کمپوست) Control (without compost) | 1.95 | 0.98 | 8.50 | 0.059 | 1.80 | 59.00 | 2.10 | 9.0 | 3.2 | 22.5 | 3.4 |
| اختلاط خاک با ۱۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 10 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.96 | 2.30 | 8.30 | 0.075 | 1.80 | 58.60 | 2.40 | 3.4 | 8.6 | 31.4 | 13.8 |
| اختلاط خاک با ۲۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 20 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.33 | 2.50 | 8.30 | 0.083 | 1.90 | 59.00 | 2.46 | 3.4 | 8.6 | 33.1 | 13.9 |
| اختلاط خاک با ۳۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 30 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.28 | 2.85 | 8.20 | 0.086 | 1.90 | 59.30 | 2.48 | 3.6 | 8.9 | 34.2 | 14.1 |
| اختلاط خاک با ۴۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 40 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.10 | 3.40 | 8.20 | 0.100 | 2.05 | 59.50 | 3.80 | 3.6 | 9.2 | 34.8 | 15.7 |
| اختلاط خاک با ۵۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 50 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.10 | 3.80 | 8.20 | 0.100 | 2.10 | 59.50 | 3.80 | 4.4 | 9.5 | 35.6 | 15.8 |
| اختلاط خاک با ۶۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 60 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.07 | 4.40 | 8.15 | 0.200 | 2.04 | 59.70 | 4.60 | 4.4 | 9.8 | 36.3 | 16.1 |
| اختلاط خاک با ۷۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 70 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.06 | 4.40 | 8.00 | 0.400 | 2.28 | 60.01 | 4.60 | 4.45 | 10.4 | 40.4 | 16.8 |
| اختلاط خاک با ۸۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 80 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.07 | 4.40 | 7.80 | 0.460 | 2.30 | 60.06 | 4.60 | 4.4 | 11.3 | 41.3 | 17.2 |
| اختلاط خاک با ۹۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 90 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.07 | 4.50 | 8.00 | 0.460 | 2.28 | 60.06 | 4.60 | 4.4 | 11.6 | 41.5 | 17.4 |
| اختلاط خاک با ۱۰۰ تن کمپوست در هکتار Soil with 100 ton.ha$^{-1}$ compost | 1.08 | 4.90 | 8.20 | 0.440 | 2.30 | 59.04 | 4.71 | 4.2 | 11.8 | 40.3 | 17.6 |

در این مدت تعداد گیاهچه‌های سبز شده، بصورت روزانه ثبت و در پایان، سرعت و درصد ظهور گیاهچه‌ها از طریق معادله‌های یک و دو تعیین گردید (۴).

(۱)

$$\sum {n_i}/{D_i}$$ = میانگین سرعت ظهور گیاهچه

که در آن $n_i$ تعداد گیاهچه سبز شده در روز i ام و $D_i$ تعداد روز پس از شروع آزمایش می‌باشد.

(۲)

$$\sum {n_i}/{n} * 100$$ = درصد ظهور گیاهچه

که در آن $n_i$ تعداد گیاهچه سبز شده در روز i ام و n تعداد کل بذور کشت شده است.

## آزمایش دوم

این آزمایش در مردادماه در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار صورت پذیرفت و برای انجام آن، سه سطح از مطلوب‌ترین تیمارهای اختلاط کمپوست شهری با خاک در آزمایش اول (۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن کمپوست در هکتار) و یک سطح تیمار شاهد که فاقد کمپوست و فقط شامل خاک مزرعه بود به عنوان چهار سطح فاکتور اول در نظر گرفته شدند (بافت خاک نیز از نوع لوم رسی شنی بود). فاکتور دوم شامل تیمارهای تنش رطوبتی بود که در سه سطح ۲۵، ۵۰ ،۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (به ترتیب به عنوان تنش‌های شدید و ملایم و عدم تنش) اعمال گردید. ظرفیت زراعی در این مرحله به روش وزنی محاسبه شد. بدین ترتیب که جهت تعیین درصد رطوبت در وضعیت ظرفیت زراعی خاک (F.C) سه گلدان از خاک مورد آزمایش تهیه و برای تعیین وزن خشک خاک، به مدت ۷۲ ساعت داخل آون در دمای ۹۰ درجه قرار گرفته و سپس گلدان‌ها با آب اشباع شدند. در ادامه به منظور جلوگیری از تبخیر سطحی، سطح گلدان‌ها با فویل آلومینیومی پوشیده و وزن گلدان‌ها بصورت روزانه اندازه‌گیری شد تا زمانی که وزن گلدان‌ها ثابت ماند. از تفاوت وزن فعلی گلدان‌ها و وزن آن‌ها پس از خشک شدن در آون درصد رطوبت ظرفیت زراعی مزرعه محاسبه گردید (۲۱).

$$FC = \frac{WS_{FC} - WS_D}{WS_D} * 100 \qquad (۳)$$

FC: میزان رطوبت خاک در شرایط ظرفیت زراعی، $WS_{FC}$: وزن خاک در شرایط ظرفیت زراعی و $WS_D$: وزن خاک خشک هستند.

در این آزمایش از لوله‌های پلی‌اتیلن با قطر ۱۱۰ میلی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر (که با درپوش‌هایی در انتهای گلدان مسدود شده بودند) استفاده شد. بر این اساس وزن هر لوله حدود ۱۴۰۰ گرم و وزن خاک جهت پر کردن هر لوله حدود ۷۰۰۰ گرم بود. پس از تهیه نسبت‌های مختلف کودی داخل لوله‌ها، ۵۰ عدد بذر در هر لوله کاشته شد. از زمان کاشت تا استقرار کامل گیاه، آبیاری چمن به صورت روزانه و به مدت ۳۰ روز ادامه یافت و پس از پایان دوره استقرار ۳۰ روزه گیاه، تیمارهای تنش رطوبتی به مدت دو ماه اعمال شدند. بدین ترتیب که لوله‌ها بطور روزانه توزین شدند و وزن کسر شده، مطابق با تیمارهای مورد نظر، از طریق اضافه کردن آب به لوله‌ها جبران گردید. در طی این مدت کلیه عملیات نگهداری چمن مانند چمن‌زنی و آبیاری به صورت متداول در سطوح چمن‌کاری فضاهای سبز شهری صورت پذیرفت.

پس از سپری شدن مدت مذکور، اندام‌های هوایی جداسازی و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس خصوصیات میزان پرولین، محتوی نسبی آب گیاه (RWC[1])، نشت الکترولیت‌ها و میزان کلروفیل کل اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که برای سنجش میزان کلروفیل‌ها ابتدا ۰/۱ گرم برگ با ۴ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی سائیده و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل‌ها توسط اسپکتروفتومتر (مدل ۲۱۰۰) در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۴ نانومتر قرائت گردید. جهت صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر از استون ۸۰ درصد استفاده شد. میزان کلروفیل a، b و کل از طریق معادلات زیر محاسبه شدند (۱۹):

$$Chl_b = 21.21A_{647} - 5.1A_{664} \qquad (۴)$$

$$Chl_a = 12.25A_{664} - 2.79A_{647} \qquad (۵)$$

$$Chl_T = Chl_a + Chl_b \qquad (۶)$$

در این معادلات:

$A_{647}$ میزان جذب نوری در طول موج ۶۴۷ نانومتر و $A_{664}$ میزان جذب نوری در طول موج ۶۶۴ نانومتر هستند.

برای سنجش پرولین از روش بیتس و همکاران (۶) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ در ۴ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک آبدار ۳ درصد کاملاً سائیده شد تا همگن شود. سپس هموژن حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف و از محلول حاصل برای سنجش پرولین استفاده گردید. ۲ میلی‌لیتر از هموژن با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها بلافاصله به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و پس از آن به دمای اتاق منتقل شدند. سپس به محتویات

1- Relative Water Content

داخل لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن افزوده شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پائین). پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه گردید. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاهی مطابق معادله زیر محاسبه شد:

(۷)

$$= \left(\frac{\mu g \;\; prolin}{ml} \times \frac{ml \;\; toloen}{115.5(\frac{\mu g}{\mu mol})}\right) / \frac{gr \;\; sample}{5}$$

میکرومول پرولین در گرم وزن تر

برای اندازه‌گیری و محاسبه محتوی نسبی آب گیاه از روش ریچی و همکاران (۲۴) استفاده گردید. بدین منظور، ابتدا برگ‌های پهن و گسترده از نمونه‌ها جدا و بلافاصله وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. سپس این برگ‌ها برای اندازه‌گیری وزن آماس، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد و 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 و محتوی نسبی آب گیاه از معادله زیر محاسبه گردید:

$$\%RWC = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} * 100 \qquad (۸)$$

$F_w$: وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری

$D_w$: وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون

$T_w$: وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

جهت تعیین پایداری غشا سلول‌های برگی از شاخص نشت الکترولیت‌ها استفاده گردید. در این روش ابتدا قطعات برگی با اندازه ۲ سانتیمتر تهیه شدند. این قطعات پس از شستشو همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت بوسیله شیکر شدیداً (۱۶۰ دور در دقیقه) تکان داده شدند. در این مرحله مقدار هدایت الکتریکی نمونه‌های آزمایش ($E_1$) بوسیله دستگاه هدایت سنج مدل JENWAY اندازه‌گیری شد. سپس لوله‌های آزمایش جهت کشته شدن سلول‌های برگی به اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شدند. بدین طریق اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در این مرحله نیز پس از سرد شدن محتویات داخل لوله‌های آزمایش انجام پذیرفت ($E_2$). در نهایت مقادیر نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید:

$$۱۰۰ = (E_1/E_2) \times EL \qquad (۹)$$

وزن خشک اندام هوایی نیز پس از قرار گرفتن اندام‌های هوایی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در آون و توزین آنها اندازه‌گیری شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab انجام گرفت. میانگین‌ها از طریق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

### آزمایش اول

### درصد سبز شدن

در آزمایش اول، اثر مقادیر مختلف کمپوست بر روی درصد سبز شدن چمن معنی‌دار شد (جدول ۳). بدین ترتیب که بیشترین درصد سبز شدن در تیمار شاهد ملاحظه گردید و تنها در این تیمار بود که درصد سبز شدن بالای ۹۵ درصد وجود داشت. با این وجود تیمارهای اختلاط کمپوست با خاک در مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن در هکتار با تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۴). بطور کلی با افزایش مقادیر کمپوست در خاک، درصد سبز شدن بطور معنی‌داری کاهش یافت و این روند تا تیمار اختلاط خاک با ۷۰ تن کمپوست در هکتار ادامه پیدا کرد. اما از تیمار ۷۰ تن کمپوست در هکتار به بعد، درصد سبز شدن بطور معنی‌داری افزایش یافت و در تیمار اختلاط خاک با ۱۰۰ تن کمپوست در هکتار از یک کاهش نسبی برخوردار بود (جدول ۴). این نتایج نشان می‌دهند که تیمارهای اختلاط کمپوست با خاک در مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن در هکتار به همراه تیمار شاهد، تاثیر بهتری بر روی درصد سبز شدن چمن داشته‌اند. به نظر می‌رسد که دلیل بالاتر بودن درصد سبز شدن چمن در تیمار شاهد ناشی از پایین بودن هدایت الکتریکی خاک در این تیمار بوده است. بطوری که در این تیمار، هدایت الکتریکی خاک حتی به یک dS/m هم نرسید. در حالی که در سایر تیمارها هدایت الکتریکی خاک بیش از dS/m ۲/۳ بود (جدول ۲). چرا که با افزایش هدایت الکتریکی خاک و به دنبال آن، منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک، جذب آب برای گیاه دشوارتر شده و گیاه شرایط کم آبی و حتی بی آبی را درک می‌کند (۵) و این موضوع برای گیاه چمن که از نظر جذب آب، گیاه پر توقعی محسوب می‌شود، می‌تواند سبب کاهش درصد جوانه‌زنی گردد. همچنین به نظر می‌رسد که تیمارهای اختلاط کمپوست با خاک در مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن در هکتار بواسطه داشتن ظرفیت نگهداری آب بالاتر، سبب افزایش معنی‌دار درصد سبز شدن چمن شده‌اند و در این تیمارها، اثر مثبت بالا رفتن ظرفیت نگهداری آب بر اثر منفی افزایش هدایت الکتریکی خاک، چیرگی پیدا کرده و همین امر باعث بهبود درصد سبز شده چمن در این تیمارها شده است. علاوه بر این، در مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن کمپوست در هکتار، وزن مخصوص ظاهری خاک بطور چشمگیری کاهش و نسبت C/N

افزایش پیدا کرد (جدول ۲). با توجه به اینکـه رابطـه وزن مخصـوص ظاهری بـا میـزان تخلخـل خـاک معکـوس بـوده و بـا کـاهش وزن مخصوص ظاهری، میزان خلل و فرج خاک افزایش می‌یابد (۳ و ۲۸)، لذا چنین به نظر می‌رسد که با افزایش مقدار کمپوسـت بـه ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن در هکتار، میزان خلل و فرج خاک نیز افزایش یافته و این امـر سبب افزایش تهویه و فراهمی بیشتر اکسیژن برای بذر شـده و نهایتـاً افزایش درصد جوانه‌زنی را به دنبال داشته است. مضافاً اینکه افـزایش نسبت C/N و به دنبال آن، افزایش ماده آلی خاک در تیمارهـای ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن کمپوست در هکتـار، در افـزایش ظرفیـت نگهـداری آب خاک موثر بوده است. از طرف دیگر، در تیمار ۱۰۰ تـن کمپوسـت در هکتار، وجود هدایت الکتریکی بیش از ۴/۹ dS/m و همچنین میـزان سدیم بیش از ۴/۷ ppm سبب چیرگی بـر سـایر مزایـای ایـن مقـدار کمپوست گشته و این امر سبب کاهش درصد جوانه‌زنی در این تیمـار شده است. این نتایج برتری تیمارهای ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن کمپوسـت در هکتار را نسبت به سایر تیمارها نشان می‌دهند. در همین راستا، فـولی و کوپریانه (۹) گزارش کردند که اضافه کردن ضایعات خمیـر کاغـذ و کمپوست حاصل از آن باعث افزایش کربن آلی خاک شـده و پـس از اضافه کردن متوالی این مواد به خاک طی مـدت دوسـال، مقـدار آب قابل دسترس در خاک بین ۵ تا ۴۵ درصد افزایش یافت.

## سرعت سبز شدن

اثر مقادیر مختلف کمپوست بـر روی سـرعت سـبز شـدن چمـن معنی‌دار شد (جدول ۳). بدین صورت که بیشترین سرعت سـبز شـدن در تیمار شاهد ملاحظه گردید و تنها در این تیمار بود که سرعت سـبز شدن به بیش از ۸ عدد بـذر در روز رسـید. لکـن، تیمارهـای اخـتلاط کمپوست با خاک در مقادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تن در هکتار پـس از تیمـار شاهد در گروه آماری بعدی قـرار گرفتنـد (جـدول ۴). بطـور کلـی بـا افزایش مقادیر کمپوست در خاک، سرعت سبز شدن بطور معنـی‌داری کاهش پیدا کرد و این روند تا تیمار اختلاط خاک با ۷۰ تن کمپوسـت در هکتار ادامه داشت. اما از تیمار ۷۰ تن کمپوست در هکتار بـه بعـد، سرعت سبز شدن افزایش معنی‌داری از خود نشان داد. با ایـن وجـود، در تیمار اختلاط خاک با ۱۰۰ تن کمپوسـت در هکتـار سـرعت سـبز شدن از یک کاهش نسـبی برخـوردار بـود (جـدول ۴). مشـابه نتـایج بدست آمده از درصد سبز شدن، چنین به نظر می‌رسد کـه تیمارهـای اختلاط کمپوست با خاک در مقـادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تـن در هکتـار بـه همراه تیمار شاهد، تاثیر بهتری بر روی سرعت سبز شدن چمن دارند. این موضوع احتمالاً ناشی از تامین رطوبـت و عناصـر غـذایی بیشـتر (خصوصاً عناصر ماکرو) در تیمارهای اخـتلاط کمپوسـت بـا خـاک در مقـادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تـن در هکتـار باشـد (جـدول ۲). کاسـادوولا و همکاران (۸) اظهار داشتند که با زیاد شدن مقـدار کمپوسـت مصـرف شده در خاک، خصوصیات مقدار ماده آلی، نیتروژن کـل، فسـفر قابـل استفاده و هدایت هیـدرولیکی در خـاک افـزایش یافـت. بطـور کلـی تحقیقات نشان داده‌اند که استقرار ضعیف گیاهچه به دلیـل خشـکی و فقدان آبیاری کافی، یکی از مهمترین مشکلات سبز شدن گیاهـان در مناطق نیمه خشک می‌باشد. گیاهانی که در شرایط تنش، از جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه بهتری برخوردار باشند، در ادامـه مراحـل رشـد نیـز سیستم ریشه‌ای قوی‌تری داشته و گیاهان بهتـر و مقـاوم‌تـری تولیـد می‌کنند. بنابراین، جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه در خاک از فراینـدهای تعیین کننده در میزان سبز بمانی محصول به شمار می‌روند (۴ و ۱۳).

بر اساس نتایج حاصـله از آزمـایش اول، بـه نظـر مـی‌رسـد کـه تیمارهای اختلاط کمپوست با خـاک در مقـادیر ۷۰، ۸۰ و ۹۰ تـن در هکتار به همراه تیمار شاهد بهترین تاثیر را بر روی خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک و همچنین درصد و سرعت سبز شدن چمن داشته‌انـد. از این رو، این تیمارها برای استفاده در آزمایش دوم انتخاب شدند.

**جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر مقادیر مختلف کمپوست بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر چمن**

**Table 3- ANOVA for (mean squares) for rate and percentage of emergence of turf seeds**

| منابع تغییر<br>S.O.V | درجه آزادی<br>df | سرعت سبز شدن<br>Rate of emergence | درصد سبز شدن<br>Percentage of emergence |
|---|---|---|---|
| کمپوست<br>Compost | 10 | 1.08** | 8.36** |
| خطا<br>Error | 33 | 0.05 | 1.61 |
| ضریب تغییرات<br>CV (%) | - | 3.10 | 1.36 |

**: معنی‌دار در سطح ۱ احتمال درصد و ns: غیر معنی‌دار

ns: non-significant and **: significant at 1% of probability level

جدول ٤- اثر کمپوست بر درصد و سرعت سبز شدن چمن

Table 4- The effect of compost on percentage and rate of emergence of turf seeds

| تیمار<br>Treatment | درصد سبز شدن<br>Percentage of emergence<br>(%) | سرعت سبز شدن<br>Rate of emergence<br>(seed per day) |
|---|---|---|
| شاهد (خاک بدون اختلاط با کمپوست)<br>Control (without compost) | 95.75 a | 8.27 a |
| اختلاط خاک با ۱۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 10 ton.ha$^{-1}$ compost | 93.50 b-e | 7.27 cd |
| اختلاط خاک با ۲۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 20 ton.ha$^{-1}$ compost | 93.00 c-e | 7.05 de |
| اختلاط خاک با ۳۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 30 ton.ha$^{-1}$ compost | 93.00 c-e | 6.97 d-f |
| اختلاط خاک با ۴۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 40 ton.ha$^{-1}$ compost | 92.25 ef | 6.80 e-g |
| اختلاط خاک با ۵۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 50 ton.ha$^{-1}$ compost | 92.00 ef | 6.66 fg |
| اختلاط خاک با ۶۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 60 ton.ha$^{-1}$ compost | 91.00 f | 6.54 g |
| اختلاط خاک با ۷۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 70 ton.ha$^{-1}$ compost | 94.75 a-c | 7.59 bc |
| اختلاط خاک با ۸۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 80 ton.ha$^{-1}$ compost | 95.00 ab | 7.68 b |
| اختلاط خاک با ۹۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 90 ton.ha$^{-1}$ compost | 94.50 a-d | 7.51 bc |
| اختلاط خاک با ۱۰۰ تن کمپوست در هکتار<br>Soil with 100 ton.ha$^{-1}$ compost | 92.75 d-f | 6.89 ef |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر ندارند.

Means with same letter, have not significantly different at 5% based on LSD test.

## آزمایش دوم

### محتوی نسبی آب گیاه

اثر متقابل مقـادیر مختلـف کمپوسـت و تـنش خشـکی بـر روی محتوی نسبی آب گیاه معنی‌دار شد (جدول ۵). بدین ترتیب که در هر یک از مقادیر مختلف کمپوست، با افـزایش شـدت تـنش خشـکی (از عدم تنش به تنش شدید)، محتوی نسبی آب گیاه کاهش یافت. با این وجود، در مقادیر مختلف کمپوسـت، سـطوح عـدم تـنش خشـکی، بـا یکدیگر در یک گروه آماری قرار گرفتند. محتوای نسبی آب بـرگ در تیمار تنش خشکی ملایـم در مقـدار کمپوسـت ۹۰ تـن در هکتـار در مقایسه با سایر مقادیر کمپوست در سطوح مختلـف تـنش خشـکی در رتبه بالاتری قرار گرفت. محتـوای نسـبی آب بـرگ در تیمـار تـنش خشکی شدید در مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار در مقایسه بـا سـایر مقادیر کمپوست در سطوح تنش خشکی شدید در رتبه بـالاتری قـرار داشت و در این تیمار نسبت به سطوح مشابه، محتوی نسبی آب گیـاه کاهش کمتری از خود نشان داد (جدول ۶). تحقیقات نشان داده‌اند که تنش خشکی بر محتوی نسبی آب برگ‌ها اثر گذاشته و افزایش شدت تنش سبب کاهش میزان آب نسبی برگ‌ها می‌شـود. لـذا محققـین از محتوی نسبی آب برگ به عنـوان شـاخص مناسـبی جهـت ارزیـابی وضعیت آب برگ‌ها یاد می‌کنند (۱۰). بطور کلـی محتـوی نسـبی آب برگ شاخص مناسـبی بـرای ارزیـابی مقاومـت گیاهـان بـه خشـکی محسوب شده و به نظر می‌رسد که این شاخص، حتـی از خصوصـیت پتانسیل آب برگ هم کارایی بهتری داشته باشد (۵). چرا که محتـوی نسبی آب برگ بالاتر به معنی توانایی بیشـتر بـرگ در حفـظ مقـادیر بالاتر آب در شرایط تنش است (۵). مطالعات انجـام شـده در مقیـاس سلولی بازگوکننده آن هستند کـه گیاهـان از طریـق ایجـاد تغییـر در متابولیسم سلولی در جهت مقابله با تنش خشکی، تلاش می‌کننـد تـا خسارات ناشی از تنش را کاهش دهنـد. در ایـن راسـتا، گیاهـانی کـه بتوانند در زمان کاهش پتانسیل آب خاک، پتانسیل فشاری سلول‌هـای خود را در حد بالا حفظ کرده و تا حد امکان از کـاهش آب سـلول‌هـا ممانعت کنند، در مقابله با تنش موفق‌تر خواهند بود (۷). به نظـر مـی رسد که در تحقیق حاضر، ایـن مهـم در مقـدار کمپوسـت ۹۰ تـن در هکتار رخ داده که این امر احتمالاً ناشی از ظرفیت بالای این مقدار از کمپوست در ذخیره آب و همچنین تاثیر آن در منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی محتوی سلول‌های برگ چمن و به دنبال آن، حفظ بیشتر آب موجود در سلول‌ها بوده است.

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر کمپوست و تنش خشکی بر برخی صفات مورد مطالعه چمن

**Table 5- ANOVA (mean squares) for the effect of compost and drought stress on some traits of turf**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | محتوی نسبی آب Relative water content | پرولین Proline | نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakage | کلروفیل کل Total chlorophyll | وزن خشک اندام هوایی Drought weight of shoot |
|---|---|---|---|---|---|---|
| کمپوست Compost (C) | 3 | 327.22 ** | 5226.4 ** | 259.50 ** | 5.21 ** | 0.192 ns |
| تنش خشکی Drought stress (D) | 2 | 5134.5 ** | 24068 ** | 1414.1 ** | 43.23 ** | 2.68 ** |
| کمپوست × تنش خشکی C × D | 6 | 57.37 ** | 2162.2 ** | 75.73 ** | 1.44 ** | 0.037 ns |
| خطا Error | 36 | 4.65 | 1.20 | 0.81 | 0.22 | 0.181 |
| ضریب تغییرات CV (%) | - | 3.03 | 2.30 | 6.27 | 2.78 | 13.43 |

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

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

جدول ٦- اثر متقابل کمپوست × تنش خشکی بر برخی صفات چمن

**Table 6- Interaction effect of compost ×drought stress on some traits of turf**

| کمپوست Compost (ton.ha$^{-1}$) | تنش خشکی Drought stress | محتوی نسبی آب Relative water content (%) | پرولین Proline (µM.gFW$^{-1}$) | نشت الکترولیت‌ها Electrolyte leakage (%) | کلروفیل کل Total chlorophyll (µg.gFW$^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | عدم تنش Without stress | 85.32 ab | 12.38 g | 5.20 g | 18.20 a |
| | تنش ملایم Moderate stress | 67.85 d | 61.96 c | 21.07 b | 16.71 b |
| | تنش شدید Severe stress | 41.72 g | 153.75 a | 29.74 a | 13.97 d |
| 70 | عدم تنش Without stress | 87.85 a | 12.35 g | 5.11 g | 18.25 a |
| | تنش ملایم Moderate stress | 72.35 c | 40.24 e | 16.44 c | 16.98 b |
| | تنش شدید Severe stress | 51.85 f | 80.97 b | 30.96 a | 14.68 c |
| 80 | عدم تنش Without stress | 88.15 a | 12.35 g | 5.12 g | 18.25 a |
| | تنش ملایم Moderate stress | 72.67 c | 39.90 e | 11.45 e | 17.25 b |
| | تنش شدید Severe stress | 52.15 f | 80.40 b | 21.51 b | 14.71 c |
| 90 | عدم تنش Without stress | 88.40 a | 12.34 g | 5.09 g | 18.39 a |
| | تنش ملایم Moderate stress | 82.77 b | 20.23 f | 7.10 f | 18.17 a |
| | تنش شدید Severe stress | 62.02 e | 44.68 d | 13.48 d | 16.90 b |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD ندارند.

Means with same letter, have not significantly different at 5% based on LSD test.

**میزان نشت الکترولیت‌ها**

اثر متقابل مقادیر مختلف کمپوست و تنش خشکی بر روی میزان نشت الکترولیت‌های چمن معنی‌دار شد (جدول ۵). بدین صورت که در مقادیر مختلف کمپوست، کمترین میزان نشت الکترولیت‌ها در تیمار عدم تنش وجود داشت و در این تیمارها میزان نشت الکترولیت‌ها، کمتر از ۵/۴۰ درصد بود و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند. بطور کلی در هر یک از مقادیر مختلف کمپوست، با افزایش شدت تنش خشکی (از عدم تنش به تنش شدید)، میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش معنی‌داری از خود نشان داد (جدول ۶). علاوه بر این، بیشترین میزان نشت الکترولیت‌ها در دو تیمار عدم مصرف کمپوست و مصرف ۷۰ تن کمپوست در هکتار در شرایط تنش شدید وجود داشت. به گونه‌ای که در این دو تیمار میزان نشت الکترولیت‌ها بیش از ۲۹ درصد بود و این دو تیمار در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۶). لکن، در تیمار تنش خشکی شدید و مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار نسبت به سایر مقادیر کمپوست در سطوح مختلف تنش خشکی شدید، میزان نشت الکترولیت‌ها بطور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۶). با توجه به کاهش کمتر محتوی نسبی آب گیاه در تیمار تنش خشکی شدید و مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار، نشت کمتر الکترولیت‌ها در این تیمار منطقی به نظر آمده و چنین به نظر می‌رسد که این موضوع نشان دهنده درک کمتر تنش خشکی شدید توسط گیاه در تیمار ۹۰ تن کمپوست در هکتار باشد. احتمالاً توانایی بالای این مقدار از کمپوست در ذخیره آب و جذب آن بصورت تدریجی توسط گیاه، در حفظ بیشتر آب موجود در سلول‌ها و انسجام بیشتر غشاءهای سلولی و به دنبال آن، نشت کمتر الکترولیت‌ها موثر بوده است. در همین راستا، الگوآکیل و همکاران (۲) در بررسی اثر کمپوست لجن فاضلاب روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه *Juniperus oxycedrus* L. تحت شرایط تنش خشکی عنوان کردند که به دلیل اثرات مثبت کمپوست بر بهبود جذب عناصر نیتروژن و فسفر و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانت‌ها در شرایط کمبود آب، کاربرد آن می‌تواند در کاهش اثرات مضر تنش خشکی بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه موثر باشد.

**میزان پرولین**

اثر متقابل مقادیر مختلف کمپوست و تنش خشکی بر روی میزان پرولین چمن معنی‌دار شد (جدول ۵). به گونه‌ای که در مقادیر مختلف کمپوست، کمترین میزان پرولین در تیمار عدم تنش وجود داشت و در این تیمارها میزان پرولین، کمتر از ۱۲/۴۰ میکرومول بر گرم وزن تر بود و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند. بطور کلی در هر یک از مقادیر مختلف کمپوست، با افزایش شدت تنش خشکی (از عدم تنش به تنش شدید)، میزان پرولین افزایش معنی‌داری از خود نشان داد (جدول ۶). علاوه بر این، بیشترین میزان پرولین در تیمار عدم مصرف کمپوست در شرایط تنش شدید وجود داشت. به نحوی که در این تیمار میزان پرولین بیش از ۱۵۰ میکرومول بر گرم وزن تر بود. این در حالی بود که در سایر مقادیر کمپوست و در شرایط تنش خشکی شدید، میزان پرولین حتی به ۸۱ میکرومول بر گرم وزن تر هم نرسید (جدول ۶). همچنین در تیمار تنش خشکی شدید و مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار میزان پرولین تنها به ۴۴/۶۸ میکرومول بر گرم وزن تر رسید که نسبت به شرایط تنش مشابه در مقادیر کمپوست ۷۰ و ۸۰ تن در هکتار، بطور معنی‌داری و به ترتیب به میزان ۸۱/۲۲ و ۷۹/۹۴ درصد کمتر بود (جدول ۶). این موضوع به ظرفیت بالای مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار در نگهداری بیشتر آب نسبت داده شد. به نظر می‌رسد که توانایی بالای این مقدار از کمپوست در ذخیره آب و استفاده گیاه بصورت تدریجی از آن سبب شده است تا گیاه کمتر سطح تنش را درک کرده و به همین جهت، کمتر به سنتز پرولین در بافت‌های خود بپردازد. پرولین یکی از اسید آمینه‌های موجود در سیتوپلاسم سلول‌ها بوده که مولکول‌های آن دارای دو قسمت آبدوست و آب گریز هستند (۱۵). تجمع پرولین در بافت‌های گیاه تحت شرایط تنش می‌تواند به جذب آب توسط ریشه کمک کند. ضمن آنکه حضور آن در سیتوپلاسم سلول‌های برگ، در محافظت از تیلاکوئیدهای کلروپلاست و سیستم‌های غشائی موجود در سیتوپلاسم و همچنین غشای خود سلول موثر است. علاوه بر این، پرولین از طریق پاکسازی رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل و ممانعت از تخریب آنزیم‌های سلولی در تحمل گیاه در برابر تنش موثر است (۱۵ و ۲۹). از طرف دیگر، چنین به نظر می‌رسد که هرچه میزان تولید پرولین در گیاه افزایش یابد بدان معنی است که گیاه سطح بیشتری از تنش را درک کرده است. لذا فراورده‌های فتوسنتزی که می‌بایست صرف تولید ماده خشک شوند، جهت سنتز متابولیت‌هایی همچون پرولین مصرف می‌شوند و این موضوع می‌تواند کاهش جثهٔ گیاه را به دنبال داشته باشد. از این رو، انجام اقداماتی همچون اضافه کردن کمپوست به خاک، جهت درک کمتر تنش توسط گیاه می‌تواند مفید واقع شود.

**میزان کلروفیل کل**

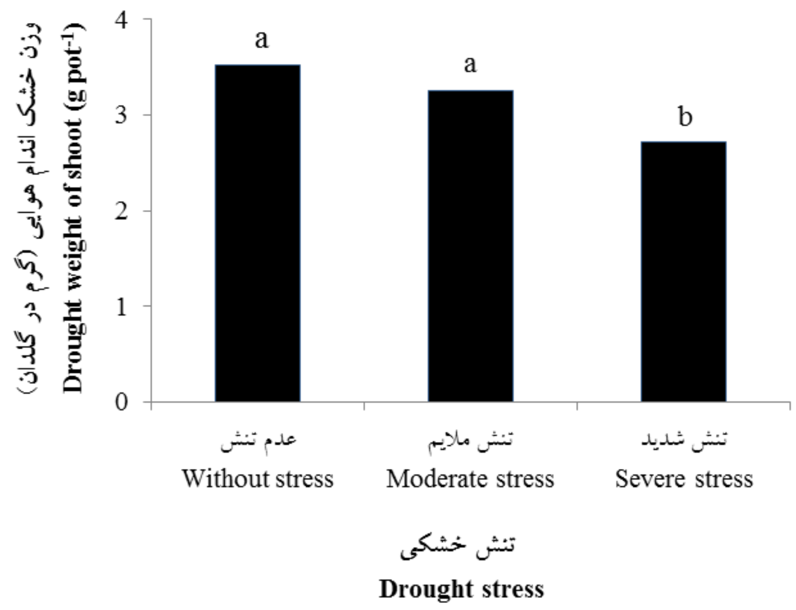
اثر متقابل مقادیر مختلف کمپوست و تنش خشکی بر روی میزان کلروفیل کل گیاه معنی‌دار شد (جدول ۵). بدین ترتیب که در هر یک از مقادیر مختلف کمپوست، با افزایش شدت تنش خشکی (از عدم تنش به تنش شدید)، میزان کلروفیل کل کاهش یافت. با این وجود، در مقادیر مختلف کمپوست، سطوح عدم تنش خشکی، با یکدیگر در یک گروه آماری قرار گرفتند. همچنین

تیمار تنش خشکی ملایم در مقادیر کمپوست ۷۰ و ۸۰ تن در

هکتار و عدم مصرف کمپوست از این نظر در یک گروه آماری قرار گرفتند. لکن تیمار تنش خشکی شدید در مقدار کمپوست ۹۰ تن در هکتار با میزان کلروفیل ۱۶/۹ میکرومول بر گرم در مقایسه با سایر مقادیر کمپوست در سطوح تنش خشکی شدید در رتبه بالاتری قرار داشت و در این تیمار نسبت به سطوح مشابه، میزان کلروفیل کل کاهش کمتری از خود نشان داد (جدول ۶). بطور کلی اندازه‌گیری غلظت کلروفیل به عنوان یک شاخص مهم برای ارزیابی قدرت منابع اصلی فتوسنتزی (برگ‌ها) در گیاه، شناخته شده و قابل استناد است (۲۲ و ۲۳). در تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که کاهش فراهمی آب سبب کاهش سنتز کلروفیل و تقلیل میزان آن در گیاه چمن شده است. نیکولاوا و همکاران (۲۲) در تحقیقات خود به بررسی اثرات تنش خشکی بر مقدار کلروفیل و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت برگ‌های سه رقم گندم پرداختند. این محققین، افزایش قابل توجه مقدار کلروفیل در ابتدای وقوع تنش خشکی و کاهش کلروفیل در زمان تداوم تنش را گزارش کردند. علاوه بر این، با توجه به نتایج حاصله در این پژوهش، کاربرد کمپوست (خصوصاً تیمار ۹۰ تن کمپوست در هکتار) توانسته است بواسطه تامین آب و مواد غذایی لازم برای سنتز کلروفیل (مانند نیتروژن) باعث افزایش مقدار آن گردد.

## وزن خشک اندام هوایی

اثر مقادیر مختلف کمپوست بر روی وزن خشک اندام هوایی چمن معنی‌دار نشد. اما اثر سطوح تنش خشکی بر روی وزن خشک اندام هوایی چمن معنی‌دار شد (جدول ۵). بطوری که با افزایش شدت تنش خشکی (از عدم تنش به تنش شدید)، وزن خشک اندام هوایی کاهش یافت. با این وجود، بین تیمارهای عدم تنش و تنش خشکی ملایم از این نظر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اما در تنش خشکی شدید، نسبت به تیمارهای عدم تنش و تنش خشکی ملایم، وزن خشک اندام هوایی به ترتیب ۲۹/۴۱ و ۱۹/۸۵ درصد کمتر بود (شکل ۱). به نظر می‌رسد که با پیشرفت تنش خشکی ظرفیت فتوسنتزی گیاه بواسطه اثراتی همچون کمتر شدن میزان کلروفیل کاهش پیدا کرده و به دنبال آن، اختصاص مواد فتوسنتزی به توسعه اندام‌های هوایی کمتر شده است. از طرف دیگر، این نتایج نویدبخش وجود یک مقاومت نسبی در چمن تال فسکیو تحت شرایط تنش خشکی بوده و به نظر می‌رسد که احتمالاً محدود کردن آب آبیاری تا حدی می‌تواند به عنوان یک استراتژی مدیریتی در مواجهه با بحران کم آبی در فضای سبز (خصوصاً چمن‌کاری) موثر باشد. در همین راستا گزانچیان و همکاران (۱۱) نیز در بررسی پاسخ گیاه *Elymus elongatum* در برابر تنش خشکی، کاهش وزن خشک اندام هوایی آن را گزارش کردند. لکن آنها استفاده از این گیاه را به دلیل قابلیت بالای آن در بازیافت خود پس از رفع تنش، به عنوان راهکاری برای مقابله با بحران کم آبی توصیه کردند. در تحقیقی دیگر، سادات فریزنی و همکاران (۲۵) طی مطالعه تأثیر اختلاط مقادیر مختلف کمپوست پسماند شهری با خاک بر روی خصوصیات ریشه چمن تال فسکیو در شرایط تنش رطوبتی، گزارش کردند که در زمان وقوع تنش خشکی، گیاه تلاش می‌کند تا با کاهش وزن خشک اندام هوایی و اختصاص بخش بیشتری از فراورده‌های فتوسنتزی به ریشه‌ها، با تنش موجود مقابله کند.




**شکل ۱- اثر تنش خشکی بر وزن خشک اندام هوایی چمن**

**Figure 1- The effect of drought stress on the dry weight of turf aerial parts (LSD, *p≤0.05*)**

## نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، کاربرد ۹۰ تن کمپوست در هکتار بواسطهٔ اثرات مثبتی همچون افزایش ظرفیت نگهداری رطوبت خاک، افزایش حاصلخیزی خاک و افزایش تخلخل و تهویهٔ خاک، بطور معنی‌داری در بهبود خصوصیات فیزیولوژیک مطالعه شده برای چمن تال فسکیو در شرایط تنش خشکی تاثیرگذار بود. بطوری که در کمپوست ۹۰ تن در هکتار و سطح تنش شدید، نسبت به کمپوست ۸۰ تن در هکتار و سطح تنش مشابه، تقریباً تمامی خصوصیت‌های مورد بررسی، بطور معنی‌داری بهبود پیدا کردند. به نظر می‌رسد که در تیمار کمپوست ۹۰ تن در هکتار به واسطهٔ توانایی بالای آن در ذخیره آب، انسجام غشاءهای سلولی بیشتر حفظ شده و درک کمتری از تنش صورت گرفته است. از این رو، بکارگیری این مقدار کمپوست برای چمن تال فسکیو در شرایط کم آبی و وقوع تنش‌های رطوبتی توصیه می‌گردد.

## منابع


1- Agassi M., Levy G.J., Hadas A., Benyamini Y., Zhevelev H., Fizik E., Gotessman M., and Sasson N. 2004. Mulching with composted municipal solid wastes in Central Negev, Israel. Effects on minimizing rainwater losses and on hazards to the environment. Soil and Tillage Research 78: 103- 113.

2- Alguacil M., Caravaca F., Díaz-Vivancos P., Hernández J.A., and Roldán A. 2006. Effect of Arbuscular Mycorrhizae and Induced Drought Stress on Antioxidant Enzyme and Nitrate Reductase Activities in *Juniperus oxycedrus* L. Grown in a Composted Sewage Sludge-amended Semi-Arid Soil. Plant and Soil 279: 209.

3- Al-Shammary A.A.G., Kouzani A.Z., Kaynak A., Khoo S.Y., Norton M., and Gates W. 2018. Soil Bulk Density Estimation Methods: A Review. Pedosphere 28(4): 581-596.

4- Arshadi J., and Asgharipour M.R. 2011. The Effects of Seed Size on Germination and Early Seedling Growth of Pelleted Seeds of Sugar Beet. Journal of Applied Sciences Research 7(8): 1257-1260.

5- Bajji M., Lutts S., and Kinet J.M. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science 160: 669–681.

6- Bates I.S., Waldern R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

7- Bayoumi T.Y., Eid M., and Metwali E.M. 2008. Application of physiological and Biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 2341-2352.

8- Casado-Vela J., Sellés S., Navarro J., Bustamante M.A., Mataix J., Guerrero C., and Gomez I. 2006. Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils. Waste Management 26(9): 946-952.

9- Foley B.J., and Cooperband L.R. 2002. Paper mill residuals and compost effects on soil carbon and physical properties. Journal of Environmental Quality 31(6): 2086-2095.

10- Garg N., and Singla R. 2009. Variability in the response of chickpea cultivars to short-term salinity, in terms of water retention capacity, membrane permeability and osmo-protection. Turk J. Agric., 33: 1-7.

11- Gazanchian A., Hajheidari M., Khoshkholgh Sima N., and Hosseini Salekdeh G. 2007. Proteome response of Elymus elongatum to severe water stress and recovery. Journal of Experimental Botany 58(2): 291–300.

12- Gazanchian A., Sima K.K., Nayer A., Malboobi M.A., and Majidi Heravan E. 2006. Relationships between emergence and soil water content for perennial cool-season grasses native to Iran. Crop Science 46(2): 544-553.

13- Ghassemi-Golezani K., Aliloo A.A., Valizadeh M., and Moghaddam M. 2008. Effects of different priming techniques on seed invigoration and seedling establishment of lentil (*Lens culinaris* Medik). Journal of Food, Agriculture and Environment 6(2): 222-226.

14- Hargreaves J.C., Adl M.S., and Warman P.R. 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. Journal of Agriculture Ecosystem and Environment 123: 1-14.

15- Heuer B. 1994. Osmo regulatory role of proline in water stress and salt-stressed plants: 363-381. In: Pessarakli. M., (Ed.). Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Publisher. New York. P. 697.

16- Hoyle J., Keeley S., and Fagerness M. 2015. Tall Fescue Lawns. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service.

17- Huang B., Fry J.D., and Wang B. 1998. Water relations and canopy characteristics of tall fescue cultivars during and after drought stress. HortScience 33: 837-840.

18- Lee J.J., Park R.D., Kim Y.W., Shim J.H., Chae D.H., Rim Y.S., and Kim K.Y. 2004. Effect of food waste compost on microbial population, soil enzyme activity and lettuce growth. Bio resource Technology 93(1): 21-28.

19- Lichtenthaler H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic bio membranes. Methods in Enzymol 148: 350-382.

20- Morris B., and Kopec D. 2010. Maintaining Tall Fescue Turf grass in Urban Mojave Desert Landscapes. University of Nevada Cooperative Extension.

21- Movahedi Dehnavi M., Ranjbar M., Yadavi A.R., and Kavoosi B. 2010. The effect of cyclocel on proline, soluble sugars, protein, oil content and fatty acids of flaxseed oil (*Linum ussitatissimum*) under drought stress conditions in pot cultivation. Journal of Environmental Stress in Crop Sciences 3(2): 129-138. (In Persian with English abstract)
22- Nikolaeva M.K., Maevskaya S.N., Shugaev A.G., and Bukhov N.G. 2010. Effect of Drought on Chlorophyll Content and Antioxidant Enzyme Activities in Leaves of Three Wheat Cultivars Varying in Productivity. Russian Journal of Plant Physiology, 57(1): 87–95.
23- Pradhan G.P., Vara Prasad P.V., Fritz A.K., and Kirkham M.B. 2012. Effects of drought and high temperature stress on synthetic hexaploid wheat. Functional Plant Biology 39: 190-198.
24- Ritchie S.W. and Nguyen H.T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.
25- Sadat Farizani M., Khazaie H.R., and Gazanchian G.A. 2019. Evaluating the effect of mixing different amounts of municipal solid waste (MSW) compost with soil on root properties of tall fescue (*Festuca arundinaceae* Schreb.) under moisture stress conditions**.** Journal of Horticultural Science 33(1): 155-167. (In Persian with English abstract)
26- Saha M.C., Rouf Mian M.A., Eujayl I., Zwonitzer J.C., Wang L., and May G.D. 2004. Tall Fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species. Theoretical and Applied Genetics 109(4): 783-791.
27- Sakr W.R.A. 2009. Response of paspalum turf grass grown in sandy soil to trinexapac-ethyl and irrigation water salinity. Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants 1: 15-26.
28- Shiri J., Keshavarzi A., Kisi O., Karimi S., and Iturraran-Viveros U. 2017. Modeling soil bulk density through a complete data scanning procedure: Heuristic alternatives. Journal of Hydrology 259: 592-602.
29- Taiz L., and Zeiger E. 2006. Plant Physiology. Sinauer Associates. Inc. Publishers.
30- Waltz C., and Landry G. 2006. Seeding Tall Fescue Lawns. Georgia Center for Urban Agriculture.
31- Wanchez-monedaro M.A., Roig A., Paredes C., and Bernal M.P. 2001. Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of composting mixtures. Bioresource Technology, 78: 301- 308.
32- Waqas M., Ahmad B., Arif M., Munsif F., Khan A.L., Amin M., Kang S.M., Kim Y.H., and Lee I.J. 2014. Evaluation of humic acid application methods for yield and yield components of mungbean. American Journal of Plant Sciences 5: 2269-2276.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 253-266
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۶۶-۲۵۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Improving Drought Stress Tolerance using Municipal Solid Waste (MSW) Compost in Native Grass – (*Festuca arundinacea*)

**M. Sadat Farizani[1]*- H.R. Khazaee[2]- Gh.A. Gazanchian[3]**
Received: 27-05-2020
Accepted: 11-11-2020

**Introduction:** Beautification of urban space and creating attractive face for cities by development of green space has caused to capita of urban green space be introduced as an important factor in urban development. Meanwhile, the important role of cover plants, especially turf grass, in creating green spaces has caused to add quickly the area of these beautiful plants in the cities. Nevertheless, existence of plants with high water requirements between the turf grasses, have created limitations in terms of water requirements supply. The grass planted in the country is mainly from imported seed types that are not so compatible with dry and semi-arid conditions in our country and from this point of view, sometimes they create limitations in terms of water supply. One of the native grasses in the country, is Tall Fescue (*Festuca arundinaceous*), which is a variety of cool-season, perennial and herbaceous grasses. One of the strategies to preserve grass under drought stress is improving soil structure with the aim of increasing the moisture. Organic compounds that improve soil physical and biological conditions (such as municipal waste compost and manure) can be effective. Using compost improves soil structure and strengthens soil mineral content and allows soil to retain moisture for longer. Because compost can hold water about two to six times its volume and prevent it from being wasted. Compost in heavy soils, improves soil porosity and makes the soil better ventilation elderly. In light soils, it acts like a sponge and by keeping water and food safe, it will greatly prevent them from being washed. Therefore, present research was done to evaluate the effect of mixing different amounts of Municipal Solid Waste (MSW) compost with soil on some physiological properties of Tall Fescue native grass under moisture stress conditions.

**Materials and Methods:** This research was conducted in the form of two experiments in research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad. The first experiment with aim of evaluating percentage and rate of grass emergence was conducted in a completely randomized design with four replications that the experimental treatments consisted of ten different levels of compost mixing with soil (10 up to 100 $t.ha^{-1}$) and control treatment (agronomic soil without mixing compost). In the second experiment, three values of 70, 80 and 90 tons of compost per hectare plus control (no compost consumption) as the first factor and three levels of moisture stress of 25, 50 and 100 percent of field capacity as intense stress, mild stress and without stress, respectively as the second factor that were compared in factorial by a completely randomized design with four replications.

**Results and Discussion:** The results of the first experiment showed that the amounts of 70, 80 and 90 tons per hectare increased significantly the percentage and rate of grass emergence due to increased fertility and higher water holding capacity and in these treatments, the positive effect of rising water holding capacity has been dominated on negative effect of electrical conductivity of the soil and this topic has led to an improvement in the percentage of grass emergence in these treatments. Furthermore, in the amounts of 70, 80 and 90 tons of compost per hectare, the bulk density of soil significantly decreased and the C/N ratio dramatically increased. In the second experiment, with increasing drought stress in different amounts of compost, the total chlorophyll content decreased and relative water content of plant, proline and electrolyte leakage increased. In the compost treatment of 90 tons per hectare, due to its high ability to store water, the cell membrane integrity was more preserved and it was done less understanding of stress. The shoot dry weight decreased significantly as a result of increasing the severity of drought stress.

**Conclusion:** Based on the findings of this study, application of 90 tons of compost per hectare significantly improved some of physiological traits for Tall Fescue grass in drought stress conditions. Also, it seems that Tall

1 and 2- Graduated from Ph.D. in Plant Physiology and Professor, Department of Agriculture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mohamad.sf49@gmail.com)
3- Associate Professor of Forests and Rangelands Research, Agricultural Research and Training Center and Natural Resources of Khorasan Razavi Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Mashhad, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2021.61803.0

Fescue grass cleverly has tried to deal with drought stress with target of increase the amount of moisture available for itself. Therefore, using 90 tons of compost per hectare for Tall Fescue grass in low water conditions and occurrence of moisture stresses is recommended.

**Keywords:** Chlorophyll, Drought, Electrolyte leakage, Grass

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 267-281
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۸۱-۲۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

مقاله پژوهشی

# تغییرات برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی برگ انگور بیدانه قرمز متأثر از تنش خشکی و کاربرد برخی کودهای آلی و شیمیایی

آسیه صفری[۱]- اکرم فاطمی[۲*]- محسن سعیدی[۳]- زهرا کلاهچی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۰

## چکیده

انگور (*Vitis vinifera*) یکی از مهمترین محصولات باغی در دنیا و ایران به شمار می‌رود. خشکسالی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد گیاه و تولیدات کشاورزی در سراسر جهان بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک است. کاربرد کودهای آلی و شیمیایی به عنوان بهبود دهنده ویژگی‌های خاک یکی از راهکارهای کاهش اثرات تنش خشکی می‌باشد. به منظور بررسی اثر کاربرد کمپوست، بایوچار و سولفات پتاسیم بر وزن خشک برگ، محتوای رطوبت نسبی برگ، کلروفیل *a*، *b*، کل،کاروتنوئید و عناصر برگ انگور رقم بیدانه قرمز در شرایط بدون تنش خشکی (در حد ظرفیت زراعی) و تنش خشکی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در سال۱۳۹۶ در دانشگاه رازی (کرمانشاه) انجام شد. نتایج این پژوهش نشان داد وزن خشک برگ انگور برای تیمارهای کودی سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار به ترتیب ۳/۷، ۳/۶ و ۳/۵ گرم به دست آمد. محتوی رطوبت نسبی، غلظت کلروفیل *a* وکارتنوئید برگ بین تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری نداشت. افزایش نسبت کلروفیل *a* به *b*، ۲/۹۵، ۳/۳۰ و ۷/۰۲ درصد به ترتیب در تیمارهای بایوچار، سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با تیمار شاهد تغییر کرد. در شرایط تنش خشکی با کاربرد بایوچار در مقایسه با کمپوست و سولفات پتاسیم، غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم و مس برگ انگور به طور معنی‌داری بیشتر بوده در نتیجه نسبت کروفیل *a* به *b* و وزن خشک برگ انگور در مقایسه با شرایط بدون کاربرد کود بهبود یافت. براساس یافته‌های این پژوهش برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک برگ انگور، کاربرد بایوچار سپس سولفات پتاسیم و کمپوست در گزینه‌های بعد توصیه می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** بایوچار، سولفات پتاسیم، کاروتنوئید، کلروفیل، کمپوست

## مقدمه

کشاورزی در اقتصاد ملی کشور نقش مهمی دارد. در میان زیر بخش‌های کشاورزی، بخش باغبانی سهم زیادی در ارزش صادرات دارد. انگور نیز یکی از مهمترین محصولات باغی در دنیا و ایران به شمار می‌رود. انگور *Vitis vinifera* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان اهلی که آثار آن به صورت فسیل از دوران سوم زمین‌شناسی باقی‌مانده است. مکان و زمان تکامل کامل انگور مشخص نیست ولی به احتمال بیشتر در امتداد رودهای دجله و فرات بوده است. توزیع کنونی گونه‌های انگور در شمال آمریکای جنوبی (ارتفاعات آند کلمبیا و ونزوئلا)، آمریکای مرکزی و شمالی، آسیا و اروپا می‌باشد (۵۰ و ۲۵). تولید و سطح زیر کشت انگور ایران در سال ۲۰۱۹ به ترتیب ۱۹۴۵۹۳۰ تن (۱۴/۱ درصد) و ۱۵۵۲۰۳ هکتار (۱۱/۶ درصد) بوده است. در ایران سطح زیر کشت انگور پس از کشت پسته دومین سطح بارور را در سال ۱۳۹۸ داشته است. در استان کرمانشاه در سال ۱۳۹۸، مقدار تولید انگور آبی و دیم به ترتیب ۸۲۷۱۸ و ۱۷۶۳ تن و سطح زیر کشت انگور آبی و دیم به ترتیب ۷۷۱۰ و ۱۵۱۵ هکتار بوده است (۲ و ۱۷).

خشکسالی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد گیاه و

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
(*- نویسنده مسئول: Email: a.fatemi@razi.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی، کرمانشاه
۴- استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

DOI: 10.22067/jhs.2021.61898.0

تولیدات کشاورزی در سراسر جهان بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک است (۵۱). کاهش آب در بافت‌های گیاهی سبب تغییر در فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد (۳). محدودیت رطوبتی موجب کاهش تقسیم و انبساط سلول‌ها می‌شود به گونه‌ای که با افزایش شدت تنش خشکی در انگور وزن تر و خشک برگ کاهش می‌یابد (۶). افزایش تنش خشکی باعث کاهش محتوای رطوبت نسبی برگ و به علت اختلال در روزنه‌ها و مسیر ورود دی‌اکسیدکربن موجب کاهش کلروفیل می‌شود (۱۲). کاهش هدایت روزنه‌ای، کاهش جذب دی‌اکسیدکربن، کاهش فتوسنتز از طریق کاهش رطوبت نسبی برگ، افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب‌های ناشی از آن در کلروپلاست (از جمله کاهش شاخص پایداری غشاء) از پیامدهای ناشی از تنش خشکی در برگ انگور می‌باشد (۶، ۱۲ و ۲۰). برخی پاسخ‌های بیوشیمیایی رقم‌های مختلف انگور در شرایط تنش خشکی بررسی شده‌اند که به نتایج برخی از آنها اشاره می‌شود. نتایج مؤیدی نژاد و همکاران (۳۳) نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری رطوبت نسبی برگ دو رقم انگور یاقوتی و بیدانه سفید را کاهش داد. مقدار پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید و نشت یونی در رقم یاقوتی (رقم متحمل) کمتر از رقم بیدانه سفید (رقم حساس) گزارش شد. همچنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در دوره تنشی در رقم یاقوتی بیشتر از رقم بیدانه سفید به دست آمد (۳۳). بررسی واکنش‌های بیوشیمیایی برخی رقم‌های انگور (بیدانه سفید، چفته و یاقوتی) در شرایط تنش خشکی نشان داد که در رقم بیدانه با افزایش سطوح تنش خشکی، محتوای رطوبت نسبی برگ، غلظت کلروفیل $a$ و $b$ کاهش یافت ولی مقدار نشت یونی، تجمع مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز به همراه میزان پراکسید هیدروژن افزایش یافت. در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایکول پرکسیداز) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل تغییر معنی‌داری دیده نشد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که در تنش خشکی رقم بیدانه سفید کمترین انسجام غشایی و رقم‌های چفته و یاقوتی توانایی بالاتری در حفظ انسجام غشایی داشتند (۴۹).

در کشاورزی علاوه بر تأثیر مهم رطوبتی بر مقدار تولید، استفاده بهینه از کود نیز در تولید نهایی حائز اهمیت است. تولید موفق محصولات کشاورزی در وضعیت آب و هوایی خشک مستلزم اعمال روش‌های مدیریتی مناسب است. راهکار تغذیه‌ای امکان توسعه‌ی بیشتر کشت گیاه در مناطق خشک را فراهم می‌کند و می‌تواند در مقابله با تنش خشکی سودمند واقع گردد (۲۳). استفاده از کودهای شیمیایی و آلی به عنوان بهبود دهنده ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌تواند یکی از راهکارهای کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی باشد (۳۵). کودهای شیمیایی عناصر مورد نیاز گیاه را سریع‌تر در اختیار گیاهان قرار می‌دهند و باعث افزایش چشمگیر رشد و عملکرد گیاه می‌شود (۴۲). عدم آشنایی کشاورزان به تأثیر انواع کودهای شیمیایی باعث شده است تا به مصرف کودهای نیتروژنی و فسفره روی آورند و به استفاده از کودهای آلی، پتاسیمی و کم‌مصرف کمتر توجه نمایند. در مقایسه با مصرف کودهای ازته و فسفره مصرف پتاسیم نقش مؤثرتری در افزایش عملکرد در شرایط تنش خشکی و شوری ایفا می‌کند (۴۰). بررسی تأثیر محلول‌پاشی سیلیکات پتاسیم و سولفات روی بر دو رقم انگور (رشه و بیدانه قرمز) در شرایط تنش شوری نشان داد که در مؤثرترین تیمار محلول‌پاشی (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکات پتاسیم به همراه ۲ گرم در لیتر سولفات روی) و در بیشترین سطح شوری (۱۰۰ میلی‌مولار)، محتوای نسبی آب برگ، هدایت روزنه‌ای و نورساخت بیشتر از تیمار بدون محلول پاشی بود (۱۰). نتایج محلول‌پاشی ۱/۵درصد سولفات پتاسیم بر انگور بیدانه سفید در شرایط تنش شوری نشان داد که در بوته‌های تیمار شده در مقایسه با بوته‌های تیمار نشده، کاربرد پتاسیم باعث پایداری رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. نتایج همچنین کاهش معنی‌دار میزان نشت‌یونی برگ با کاربرد سولفات پتاسیم را نشان داد. از دیگر نتایج این پژوهش می‌توان به کاهش قند نامحلول، افزایش محتوای قند محلول و پرولین برگ، افزایش غلظت پتاسیم، تعدیل نسبت سدیم به پتاسیم، افزایش غلظت عناصر نیتروژن، پتاسیم، منیزیم و کلسیم با کاربرد سولفات پتاسیم اشاره نمود (۳۳). کودهای آلی نیز باعث بهبود خواص تغذیه‌ای و فیزیکی خاک مزارع می‌شود. منابع مواد آلی شامل بقایای گیاهی حاصل از فعالیت‌های زراعی، کودهای دامی و مرغی، گیاهان پوششی (کودهای سبز)، مواد حاصل از زباله‌های شهری پس از بازیافت آن‌ها، کمپوست، بایوچار، ضایعات کشت و سایر موارد می‌باشد (۳۰). استفاده از مواد آلی به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک مورد تأکید پژوهشگران بوده است. افزایش ظرفیت نگهداشت آب خاک با کاربرد کودهای آلی از جمله دلایل افزایش محصول در شرایط خشکسالی می‌باشد (۹). کاربرد کمپوست در خاک عموماً به منظور حفظ و افزایش ثبات و پایداری خاکدانه‌ها، حاصلخیزی و باروری خاک‌های زراعی و باغی است که در دهه‌های گذشته از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده است (۲۱). بایوچار به عنوان اصلاح‌کننده‌ای برای بهبود ویژگی‌های خاک و عملکرد گیاه استفاده می‌شود. دامنه وسیع ویژگی‌های بایوچار تولید شده درشرایط متفاوت تولید، امکان بهره‌گیری از فوائد این مواد در شرایط مختلف اقلیمی و خاک را فراهم نموده است (۱۸). افزایش بایوچار به خاک‌های کشاورزی ابزار سودمندی برای بهبود و باروری خاک است (۱۰)، از جمله اثرات مثبت آن بهبود حاصلخیزی خاک (۸) بهبود ویژگی‌های فیزیکی خاک (۵۱) و پاسخ مثبت به رشد و عملکرد گیاه می‌باشد (۲۷). مزایای بلند مدت استفاده بایوچار برای دسترسی به مواد غذایی به علت تثبیت بیشتر ماده آلی و نگهداری بهتر همه کاتیون‌ها در نتیجه ظرفیت تبادل کاتیونی بیشتر است (۲۸). گزارش شده است که

کاربرد بایوچار می‌تواند سبب بهبود تولیدات تاکستان‌ها در شرایط آب و هوایی خشک با یک تناوب آبیاری مناسب شود. با اینحال، کاربرد بایوچار برای کاهش تنش خشکی در کشت انگور به تجزیه و تحلیل‌های بیشتری نیاز دارد (۱۹). هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر کاربرد سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار در شرایط تنش خشکی بر وزن خشک و محتوای رنگدانه‌ای انگور رقم بیدانه قرمز بود.

## مواد و روش‌ها

**موقعیت جغرافیایی و اقلیمی محل انجام تحقیق:** دانشگاه رازی در شرق شهرکرمانشاه در ۳۴ درجه و ۱۹ دقیقه عرض شمالی و ۴۷ درجه و ۶ دقیقه طول شرقی قرار گرفته است. براساس تقسیم‌بندی اقلیمی دومارتن اقلیم منطقه سرد و نیمه خشک است. میزان بارندگی سالیانه ۴۳۷ میلی‌متر و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۱۹ متر می‌باشد. میانگین درجه حرارت سالیانه ۱۳/۳ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

**آزمایش گلخانه‌ای:** این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار بر نهال‌های دو ساله انگور رقم بیدانه قرمز انجام شد. پس از زمستان گذرانی نهال‌ها در فضای باز و خارج از گلخانه در سال ۱۳۹۵، در اواسط بهمن ماه همان سال، نهال‌های دو ساله انگور به گلدان‌های ۱۰ کیلوگرمی با ۸ کیلوگرم خاک در شرایط گلخانه (دما: ۲۵-۱۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد) انتقال داده شدند. خاک، آهکی با اسیدیته کمی قلیایی، بافت خاک لومی‌رسی سیلتی و مقدار کربن آلی خاک کم و مشابه بیشتر خاک‌های ایران (۱درصد>) بود (جدول ۱). شاخه‌های اضافی هرس شده و تنها چهار جوانه شامل سه جوانه رویشی و یک جوانه پایه بر نهال باقی ماندند. جوانه بارور انگور از نوع جوانه مرکب هست. جوانه اصلی بعد از تکامل و پس از سپری کردن دوره استراحت زمستانی تبدیل به جوانه زایشی یا رویشی می‌گردد. رقم بیدانه قرمز دارای گل‌های کامل بوده و بیشترین جوانه های بارور همانند انگور سفید بیدانه بین گره‌های ۴ الی ۱۲ مستقر می‌باشند (۲۶). نهال‌ها تا اواسط خرداد ماه و در شرایط رشد بهینه از نظر رطوبت، فراهمی عناصر غذایی و مبارزه با آفات نگهداری شدند. برای این منظور، آبیاری به صورت کامل انجام شد. در فواصل زمانی ۲۰ روز یک بار برای رفع کنه تارتن و تریپس حشره‌کش ایمیدوکلروپراید[1] به مقدار یک در هزار اضافه شد. همچنین برای رفع سفیدک قارچی از سم هگزاکونازول[2] به مقدار ۲ میلی‌لیتر در پنج لیتر آب مقطر استفاده شد. سم آبامکتین[3] به مقدار یک در هزار برای دفع شته به کار رفت. اواسط خرداد ماه ۱۳۹۶ تیمارهای کودی و سپس در ابتدای تیر ماه ۱۳۹۶ بر اساس ظرفیت زراعی خاک تیمارهای تنش خشکی اعمال شد که به مدت دوماه ادامه یافت. پیش از انجام آزمایش، برای تعیین ظرفیت زراعی خاک یک گلدان با آب اشباع و پس از خروج قطرات آب از ته گلدان، پس از گذشت ۴۸ ساعت درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد. ظرغیت زراعی خاک ۴۰ درصد به دست آمد. فاکتورهای آزمایش در این پژوهش عبارت از دو سطح آبیاری نرمال (۸۰ درصد ظرفیت زراعی خاک یا FC) و تنش خشکی (۴۰ درصد FC) بر اساس رطوبت وزنی گلدان و چهار سطح کود شامل عدم مصرف کود به عنوان شاهد، ۱/۲۵ گرم بر کیلوگرم سولفات پتاسیم، پنج درصد وزنی کمپوست (معادل ۴۰۰ گرم در گلدان) و ده درصد وزنی بایوچار (۸۰۰ گرم در گلدان) انجام شد. سولفات پتاسیم در آب مقطر حل و به خاک گلدان‌ها اضافه شد. کمپوست و بایوچار نیز به خاک گلدان‌ها اضافه و سپس گلدان‌ها آبیاری شدند. بایوچار از سرشاخه‌های درخت سیب در شرایط با اکسیژن کم در کوره فلزی با دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و پس از یک بار شستشو با آب مقطر، خشک و آسیاب شده و ویژگی‌های آن با روش‌های متداول (۲۹) اندازه‌گیری شد (جدول ۲). کمپوست زباله شهری از کارخانه کمپوست سازی کرمانشاه تهیه شد. رطوبت وزنی خاک در طول دوره آزمایش با توزین روزانه در رطوبت‌های مورد نظر ثابت نگه داشته شد. پس از پایان آزمایش، وزن خشک برگ هر گلدان تعیین شد. نمونه‌های برگ بالغ انگور (شامل برگ و دمبرگ) با آب مقطر شستشو و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. برای اندازه‌گیری غلظت ازت، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم برگ از روش هضم تر (اسید سولفوریک-اسیدسالیسیلیک-آب اکسیژنه) و برای غلظت آهن، روی، مس، منگنز از روش هضم خشک (اسید هیدروکلریک) برای عصاره‌گیری استفاده شد (۴۵).

**محتوای رطوبت نسبی برگ:** یک برگ بالغ از نهال انگور انتخاب و توزین($F_w$) شد، سپس نمونه برگ به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر در شرایط تاریکی قرار داده شد. وزن اشباع ($T_w$) نمونه برگ اندازه‌گیری گردید و نمونه برگ در داخل آون با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و پس از ۷۲ ساعت توزین گردید ($D_w$). محتوای رطوبت نسبی برگ (RWC) با معادله (۱) محاسبه شد (۵۵).

$$\text{RWC}(\%) = \frac{(Fw-Dw)}{(Tw-Dw)} \times 100 \qquad \text{معادله (۱)}$$

**کلروفیل *a*، *b*، کل و کاروتنوئید**: به ۲۵ میلی‌گرم برگ پودر شده با نیتروژن مایع دو میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد.

1- Imidia SC35%
2- Hexaconazole
3- Abamectin

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش
Table 1- Some physicochemical characteristics of studied soil

| منگنز قابل جذب Available Mn | مس قابل جذب Available Cu | روی قابل جذب Available Zn | آهن قابل جذب Available Fe | منیزیم قابل جذب Available Mg | کلسیم قابل جذب Available Ca | پتاسیم قابل جذب Available K | فسفر قابل جذب Available P | ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) | نیتروژن N | کربن آلی OC | کربنات کلسیم معادل Equivalent Calcium Carbonate | EC** (1:2.5) | *pH (1:2.5) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| mg.kg$^{-1}$ | | | | | | | | meq.100 g$^{-1}$ | | %) | | dS.m$^{-1}$ | |
| 35.24 | 1.45 | 1.70 | 4.76 | 88.80 | 376.00 | 400.00 | 1.44 | 30.86 | 0.09 | 0.93 | 5.95 | 0.60 | 7.20 |

* و ** نسبت خاک به آب در عصاره

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی کودهای آلی (کمپوست و بایوچار) مورد استفاده در آزمایش
Table 2- Chemical characteristics of compost and biochar used in the experiment

| نوع کودآلی Type of organic fertilizer | pH(1:10) | EC(1:10) | کربن آلی OC | N | P | K | Mn | Cu | Zn | Fe |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | dS.m$^{-1}$ | % | | | | mg.kg$^{-1}$ | | | |
| کمپوست Compost | 7.96 | 3.90 | 14.20 | 1.46 | 0.57 | 1.41 | 290 | 275 | 327 | 10725 |
| بایوچار Biochar | 8.44 | 3.40 | 30.00 | 0.28 | 0.53 | 0.53 | 95 | 42 | 67.50 | 1325 |

سپس با دور ۱۳۰۰۰ به مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. عصاره به دست آمده در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقادیر کلروفیل $a$، $b$ و کارتنوئید با معادله‌های ۲ تا۴ به دست آمد (۳۶).

معادله (۲) کلروفیل $a$ = $12.21(A663) - 2.81(A646)$

معادله (۳) کلروفیل $b$ = $20.31(A646) - 5.1(A663)$

معادله (۴) کاروتنوئید = $\frac{(1000 \times 470) - (3.27 \times \text{کلروفیل } a) - (104 \times \text{کلروفیل } b)}{227}$

در روابط بالا A طول موج جذب اسپکتروفتومتر است.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

### اثرات ساده تیمار کودی و تنش خشکی بر وزن خشک و محتوای رطوبت نسبی برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار کودی و تنش خشکی بر وزن خشک و محتوای رطوبت نسبی برگ انگور معنی‌دار نشد ($P$>0.05). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی بر وزن خشک برگ معنی‌دار نبود اما اثر ساده تیمار کودی بر وزن خشک برگ معنی‌دار شد ($P<0.01$) (جدول ۳). نتایج همچنین نشان داد که وزن خشک برای تیمارهای کودی سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار به ترتیب ۳/۷، ۳/۶ و ۳/۵ گرم بود (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تنش خشکی بر محتوای رطوبت نسبی برگ معنی‌دار بود ($P$<0.05). رطوبت نسبی برگ در تیمارهای بدون تنش خشکی و تنش خشکی به ترتیب ۸۳/۱۹ و ۷۳/۵۶ درصد به دست آمد (جدول ۵). پژوهشگران بیان کردند که در شرایط تنش خشکی میزان رطوبت نسبی برگ انگور کاهش معنی‌داری یافت (۳۳ و ۴۹). با وجود اینکه اثر ساده تیمار کودی بر محتوای رطوبت نسبی برگ معنی‌دار نشد (جدول ۳)، رطوبت نسبی برگ با کاربرد سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار در مقایسه با شاهد به ترتیب در حدود ۹، ۴ و ۵ درصد افزایش یافت (جدول ۴). مصرف بایوچار در شرایط تنش خشکی در بهبود محتوای رطوبت نسبی برگ گیاه تأثیر دارد (۴). رطوبت نسبی بالاتر به معنی توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش خشکی است (۴۸).

**جدول ۳- تجزیه واریانس اثر کاربرد تیمارهای کودی بر وزن خشک، محتوای رطوبت نسبی، کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کارتنوئید برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی**

**Table 3- ANOVA for the effect of fertilizer treatments on dry matter, RWC, chlorophyll *a*, *b* and total, and carotenoid of grapevines leaves cv. 'Bidane-Ghermez' under drought stress conditions**

| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | وزن خشک Dry Matter | محتوای رطوبت نسبی RWC | کلروفیل *a* Chlorophyll *a* | کلروفیل *b* Chlorophyll *b* | کلروفیل کل Total chlorophyll | کاروتنوئید Carotenoid |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| بلوک Block | 3 | 0.27 | $40.97^{ns}$ | $0.03^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $0.01^{ns}$ | $0.33^{ns}$ |
| تنش خشکی Drought stress | 1 | $2.73^{ns}$ | $210.92^{*}$ | $0.37^{**}$ | $0.01^{**}$ | $0.84^{**}$ | $3.36^{**}$ |
| کود Fertilizer | 3 | $0.69^{**}$ | $65.79^{ns}$ | $0.20^{**}$ | $0.01^{**}$ | $0.42^{**}$ | $2.32^{**}$ |
| تنش خشکی ×کود Drought stress fertilizer | 3 | $0.39^{ns}$ | $104.86^{ns}$ | $0.01^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $0.01^{ns}$ | $0.40^{ns}$ |
| خطا Error | 21 | 1.17 | 48.62 | 0.02 | 0.00 | 0.01 | 0.37 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | | 8.44 | 14.34 | 8.67 | 6.95 | 7.24 | 11.35 |

*و ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

$^{*,**}$ and $^{ns}$ in order significant at 5% ,1% and Non-significant

**جدول ٤- اثر تیمارهای کودی بر وزن خشک، محتوای رطوبت نسبی، کلروفیل *a* کلروفیل *b* و کل و کارتنوئید برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'**

**Table 4- Simple effect of fertilizers application on dry matter, RWC, chlorophyll *a*, *b* and total, and carotenoid content of grapevines leaves cv. 'Bidane-Ghermez'**

| تیمار Treatment | وزن خشک Dry matter | محتوای رطوبت نسبی RWC | کلروفیل *a* Chlorophyll *a* | کلروفیل *b* Chlorophyll *b* | کلروفیل کل Total chlorophyll | کاروتنوئید Carotenoid |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | % | $mg.g^{-1}Fw$ | | | |
| عدم مصرف کود Control | 3.05b | 79.10a | 1.24b | 0.27c | 1.51c | 4.55b |
| سولفات پتاسیم Potassium sulfate | 3.72a | 86.02a | 1.51a | 0.34b | 1.85b | 5.59a |
| کمپوست Compost | 3.6a | 81.98a | 1.58a | 0.37a | 1.95a | 5.69a |
| بایوچار Biochar | 3.49ab | 83.149a | 1.56a | 0.35ab | 1.91ab | 5.59a |

سولفات پتاسیم (۱/۲۵ گرم بر کیلوگرم)، کمپوست (پنج درصد وزنی)، بایوچار (ده درصد وزنی). در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشند.

Fertilizers: potassium sulfate (10 $g.pot^{-1}$), compost (5% w/w), biochar (10% w/w). Means with the same letter in each column are not significantly different at probability levels of 5% based on DMRT.

جدول ۵- اثر تنش خشکی بر وزن خشک، محتوای رطوبت نسبی، کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کل و کارتنوئید برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'

**Table 5- The effect of drought stress on RWC, chlorophyll *a*, *b* and total, and carotenoid content of grapevines leaves cv. 'Bidane-Ghermez'**

| تیمار Treatment | وزن خشک Dry matter | محتوای رطوبت نسبی RWC | کلروفیلa Chlorophyll a | کلروفیلb Chlorophyll b | کلروفیل کل Total chlorophyll | کاروتنوئید Carotenoid |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | g | % | $mg.g^{-1}Fw$ | | | |
| شاهد Control | 3.18 | 83.19a | 1.08a | 0.32a | 1.42a | 1.04b |
| تنش خشکی Drought stress | 3.76 | 73.56b | 0.79b | 0.25b | 1.04b | 1.23a |

در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد با استفاده از آزمون چند دامنهای دانکن نمیباشند

Means with the same letter in each column are not significantly different at probability levels of 5 and 1% based on DMRT.

### اثر ساده تنش خشکی بر کلروفیل *a*، *b* و کل برگ انگور

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار کودی و تنش خشکی بر محتوای کلروفیل *a*، *b* و کـل بـرگ انگـور معنـی‌دار نشـد ($P>0.05$). اثر ساده تـنش خشـکی بـر کلروفیـل *a*، *b* و کـل بـرگ معنی‌دار به دست آمد ($P<0.01$) (جدول ۳). در شـرایط تـنش بـدون تنش خشکی مقدار کلروفیـل *a*، *b* و کـل بـه ترتیـب ۱/۰۸، ۰/۳۲ و ۱/۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ به دسـت آمـد. در شـرایط تـنش خشکی مقدار کلروفیـل *a*، *b* و کـل بـه ترتیـب ۰/۷۹، ۰/۲۵ و ۱/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بود (جدول ۵). به عبارت دیگر، غلظـت کلروفیل *a*، *b* و کل در شرایط تنش خشـکی در مقایسـه بـا شـرایط تنش بدون تنش خشکی کاهش یافت. تنش خشکی در گیاه به علـت اختلال در روزنه‌ها و مسـیر ورود کـربن دی اکسـید موجـب کـاهش کلروفیل می‌شود (۳۱). کاهش غلظت کلروفیل در تـنش خشـکی بـه دلیل تجزیه توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان صورت می‌گیـرد (۳). ایـن آنتی‌اکسیدن‌ها شـامل کـاروتن‌هـا، آسـکوربات‌هـا، آلفـا-توکـوفرول، گلوتاتیون احیایی و آنزیم‌هایی شامل پراکسیداز، سوپراکسیددیسـموتاز، آسکوربات پراکسیدازها، کاتـالاز، پلـی فنـول اکسـیدازها و گلوتـاتیون رداکتاز می‌باشند (۲۴).

### اثر سـاده تیمـار کـودی بـر کلروفیـل *a*، *b* و کـل و غلظـت عناصر برگ انگور

نتایج تجزیه واریانس نشان داد کـه اثـر سـاده تیمـار کـودی بـر کلروفیل *a*، *b* و کل برگ انگور معنی‌دار شـد ($P<0.01$) (جـدول ۳). مقدار کلروفیل *a* در برگ انگـور بـه ترتیـب بـرای سـولفات پتاسـیم، بایوچار و کمپوست ۱/۵۱، ۱/۵۶ و ۱/۵۸ میلی‌گرم برگرم به دست آمد. همچنین مقدار کلروفیل *b* برگ انگور ۰/۳۴، ۰/۳۵ و ۰/۳۷ میلی‌گـرم برگرم برای سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار به دست آمد (جـدول ۴). افزایش غلظت کلروفیل با کاربرد کودهای آلی می‌تواند بـه دلیـل افزایش جذب عناصـرغذاییماننـد نیتـروژن توسـط گیـاه و افـزایش کلروفیل گیاه باشد.

بخش قابل توجهی از ترکیبـات رنگدانـه‌هـای فتوسـنتزی دارای نیتروژن هستند. بین نیتروژن برگ با کلروفیل همبستگی مثبت وجـود دارد (۱۳). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار کـودی و تنش خشکی ($P<0.01$)، همچنین اثر تیمارهای کـودی ($P<0.01$) و تنش خشکی ($P<0.01$) بر غلظت نیتروژن بـرگ معنـی‌دار بـود. در شرایط تنش خشکی اختلاف معنی‌داری بین غلظت نیتروژن تیمارهای کودی مختلف دیده نشد. همچنین در شـرایط تـنش خشـکی غلظـت نیتروژن برگ تیمارهای مختلف با تیمـار شـاهد و بایوچـار در شـرایط بدون تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نداشت. در شرایط بدون تـنش خشکی و تنش خشـکی، بیشـترین غلظـت نیتـروژن بـرگ در تیمـار کمپوست مشاهده شد (جدول ۷). کـاربرد کـود دامـی و کمپوسـت موجـب افـزایش ظرفیـت تبـادل کاتیونی خاک، مواد غذایی خـاک و قابلیت جذب آنهـا توسـط گیاه و افزایش تعـادل نیتروژنـی مـی‌شـود (۱۴).

وجود ترکیبات فسفردار موجب افزایش قابـل تـوجهی در غلظـت کلروفیل گیاه می‌شود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات سـاده تیمارهای کودی و تنش خشکی بر فسـفر بـرگ ($P<0.01$) معنـی‌دار شد (جدول ۶). در بین تیمارهایی که کود دریافت کرده‌اند، کمتـرین و بیشـترین غلظـت فسـفر بـرگ، ۰/۴۰ و ۰/۶۷ درصـد، بـه ترتیـب در تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار دیده شد (جدول ۸). کاربرد بایوچار باعث افزایش معنی‌دار نیتروژن و فسفر خـاک شـده در نتیجـه جـذب فسفر و نیتروژن گیاه نیز بیشتر می‌شود (۵۲). فسفر رشد ریشه را بهبود داده و پتانسیل آب برگ را حفظ می کند. با بهبود رشـد ریشـه جـذب آب و عناصر غذایی و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز افزایش می‌یابد که آسیمیلاسیون نیترات در شرایط تنش خشکی را بهبود می‌بخشد. فسفر

همچنین با بالا نگه داشتن پتانسیل آب برگ تورژسانس برگ را حفظ می‌کند که به نوبه خود هدایت روزنه‌ای و سرعت فتوسنتز را در شرایط تنش خشکی افزایش می‌دهد (۵۴). با کاربرد کودهای آلی مقدار ماده آلی خاک افزایش یافته و در نتیجه میزان تخلخل و ساختمان خاک بهبود می‌یابد (۱۴). بنابراین رشد و گسترش ریشه گیاهان افزایش می‌یابد. در شرایط مناسب فیزیکی و شیمیایی خاک با کاربرد کود آلی، گیاه می‌تواند به خوبی رشد کرده و عناصر غذایی را جذب نماید (۲۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تیمارهای کودی و تنش خشکی بر پتاسیم برگ ($P$<0.01) معنی‌دار شد (جدول ۶). در بین تیمارهای کودی بیشترین غلظت پتاسیم برگ (۱/۶۹ درصد) در تیمار بایوچار به دست آمد. غلظت پتاسیم برگ در تیمارهای سولفات پتاسیم و کمپوست به ترتیب ۱/۰۴ و ۰/۹۵ درصد به دست آمد. بین غلظت پتاسیم برگ انگور در تیمارهای سولفات پتاسیم و کمپوست اختلاف معنی‌داری دیده نشد. غلظت پتاسیم برگ انگور در این دو تیمار به طور معنی‌داری کمتر از تیمار بایوچار بود (جدول ۸). در شرایط کمبود پتاسیم حساسیت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (۱۱). نیاز زیاد به پتاسیم در شرایط تنش به نقش بازدارندگی پتاسیم در تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در طی فتوسنتز و اکسیده شدن NADPA نسبت داده شده است. عبدالرحیم و هادی (۱) گزارش کردند که کاربرد کودهای آلی سبب افزایش معنی‌دار کلروفیل و غلظت عناصری همچون نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ انگور در مقایسه با تیمار شاهد شد.

کلسیم از عناصر غذایی ضروری است که نقش مهمی در شروع بسیاری از فرآیندهای انتقال سیگنال در سلول‌های گیاهی دارد. کلسیم همچنین جذب یون‌ها را تنظیم می‌کند. حضور کلسیم در محیط بیرونی برای حفاظت غشا پلاسمایی در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش‌های مختلف ضروری است (۴۰). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تنش خشکی و تیمارهای کودی بر غلظت کلسیم برگ ($P$<0.01) معنی‌دار شد (جدول ۶). با کاربرد کودهای مورد مطالعه غلظت کلسیم برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۸). افزایش معنی‌دار کلروفیل برگ انگور با کاربرد کودهای کلسیم‌دار گزارش شده است (۵۳). میزان کلروفیل کل و نسبت کلروفیل $a$ به کلروفیل $b$ از جمله ویژگی‌هایی هستند که تحت تأثیر غلظت کلسیم برگ هستند. افزایش غلظت کلسیم در طول دوره رشد گیاه موجب افزایش محتوای کلروفیل و افزایش نسبت کلروفیل $a$ به کلروفیل $b$ می‌شود. همچنین افزایش غلظت کلسیم سبب حفاظت از کلروفیل $a$ و جلوگیری از کاهش نسبت کلروفیل $a$ به کلروفیل $b$ و مانع رنگ زدایی از کلروفیل $a$ در سیستم نوری I می شود (۴۷). همانگونه که در جدول ۴ دیده می شود با کاربرد کودها غلظت کلروفیل کل همچنین غلظت کلروفیل $a$ و کلروفیل $b$ نیز افزایش یافته است. نسبت کلروفیل $a$ به کلروفیل $b$ در تیمارهای شاهد، سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار به ترتیب ۴/۵۹، ۴/۴۴، ۴/۲۷ و ۴/۴۶ بود. نسبت کلروفیل $a$ به کلروفیل $b$ در تیمارهای سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۳/۳۰، ۷/۰۲ و ۲/۹۵ درصد کاهش یافت. علت این کاهش این است که غلظت کلروفیل $a$ با کاربرد سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۲۱/۷۷، ۲۷/۴۲ و ۲۵/۸۱ درصد افزایش یافت. در حالیکه غلظت کلروفیل $b$ با کاربرد سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب ۲۵/۹۳، ۳۷/۰۴ و ۲۹/۶۳ درصد افزایش یافت. بنابر این نتایج، با کاربرد کودها غلظت کلروفیل $a$ اندکی افزایش یافته در حالیکه غلظت کلروفیل $b$ افزایش بیشتری یافته در نتیجه این نسبت کاهش یافته است.

منیزیم اتم مرکزی مولکول کلروفیل می‌باشد. منیزیم انتقال کربوهیدارت در آوند آبکش را بهبود می‌بخشد و سبب کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و خسارت اکسیداتیو به کلروپلاست در شرایط تنش خشکی می‌شود (۵۴). منیزیم همچنین رشد و سطح ریشه را افزایش می‌دهد که به افزایش آب و عناصر غذایی توسط ریشه و انتقال ساکاروز از برگ‌ها به ریشه کمک می‌کند (۵۴). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار کودی و تنش خشکی بر غلظت منیزیم برگ معنی‌دار ($P$<0.01) بود (جدول ۶). در شرایط تنش خشکی، غلظت منیزیم برگ انگور بین تیمارهای شاهد، سولفات پتاسیم و کمپوست معنی‌دار نبود. غلظت منیزیم برگ انگور در این تیمارها به طور معنی‌داری ($P$<0.01) از تیمار بایوچار بیشتر بود (جدول ۷). صفری و همکاران (۴۳) علل کاهش غلظت منیزیم برگ در تیمار بایوچار را به جذب شیمیایی کاتیون‌ها از جمله منیزیم توسط بایوچار و برهمکنش منیزیم و پتاسیم خاک و کاهش جذب منیزیم توسط گیاه نسبت داده‌اند. همبستگی منفی و معنی‌دار بین پتاسیم و کلسیم همچنین بین پتاسیم و منیزیم خاک گزارش شده است (۳۷).

نقش محافظتی پتاسیم در گیاهانی که از تنش خشکی برخوردار هستند با حفظ pH بالا در استروما و در برابر آسیب فتواکسیداتیو به کلروپلاست گزارش شده است (۵۴). عنصر منیزیم یک ترکیب کلروفیلی است که در فعالیت های سنتزی نقش دارد و کلسیم نیز با حضور در ساختمان پکتین نقش ساختمانی دارد. نیاز ارقام مختلف به عناصر متفاوت هست و نسبت پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم برای تعادل تغذیه‌ای بیان می‌شود (۴۴). نتایج نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و کود بر نسبت پتاسیم به منیزیم ($P$<0.01) معنی‌دار شد (جدول ۶). بیشترین مقدار نسبت پتاسیم به منیزیم در شرایط تنش خشکی در تیمار بایوچار و کمترین مقدار در شرایط بدون تنش خشکی در تیمار شاهد بدست آمد ( جدول ۷). همچنین نتایج نشان داد که اثر تیمار کودی بر نسبت پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم معنی‌دار ($P$<0.01) بود (جدول ۶). بیشترین و کمترین مقدار نسبت

پتاسیم به مجموع کلسیم و منیزیم به ترتیب در تیمارهای بایوچار و کمپوست دیده شد (جدول ۸).

کمبود عناصر ریز مغذی در کاهش رنگدانه های سیستم فتوسنتزی نقش دارد. کمبود آهن به نسبت روی و منگنز باعث خسارت بیشتر به سیستم نوری می‌شود (۴۱). آهن نقش مهمی در سیتوکروم در زنجیره انتقال الکترون دارد (۱۰). مس به عنوان جزئی از پروتئین‌ها و آنزیم‌های دخیل در انتقال الکترون و واکنش‌های احیاء بوده و همچنین به عنوان یک ناقل الکترون در فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوسنتز شرکت می‌کند (۵۶). منگنز توانایی تجزیه مولکول های آب در سیستم نوری در گیاه را دارد (۷). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمارهای کودی و تنش خشکی بر غلظت آهن و مس برگ انگور ($P$<0.01) معنی‌دار شد. در شرایط تنش خشکی با کاربرد کودهای شیمیایی و آلی غلظت عناصر کم مصرف برگ انگور در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (به استثناء غلظت آهن برگ در تیمار بایوچار). اثر ساده تنش خشکی ($P$<0.05) همچنین اثر ساده تیمارهای کودی ($P$<0.01) بر غلظت منگنز برگ معنی‌دار به دست آمد (جدول ۶). با کاربرد سولفات پتاسیم غلظت منگنز برگ به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای آلی بود (جدول ۸). نتایج نشان داد که در شرایط تنش خشکی، بیشترین غلظت آهن، کلروفیل *a*، *b* و کل برگ در تیمار کمپوست به دست آمد (جدول ۷). همچنین بیشترین غلظت مس برگ در تیمار کمپوست و بایوچار و بیشترین غلظت روی برگ در تیمار سولفات پتاسیم به دست آمد (جدول ۸). غلظت بیشتر عناصر کم مصرف برگ در تیمار کمپوست در مقایسه با بایوچار را می‌توان به غلظت بیشتر این عناصر در کمپوست مربوط دانست (جدول ۲).

**اثر ساده تنش خشکی بر غلظت کاروتنوئید برگ انگور**

پژوهشگران کاهش کلروفیل برگ در اثر تنش خشکی را به علت افزایش رادیکال‌های اکسیژن در سلول مربوط دانسته‌اند. رادیکال آزاد موجب نابودی رنگدانه‌ها می‌شود. در شرایط تنش خشکی میزان کارتنوئید که به عنوان حمایت کننده کلروفیل در برابر اکسیداسیون نوری می‌باشد، مانع از تخریب بیشتر کلروفیل می‌شود. بر این اساس در شرایط تنش خشکی کارتنوئید افزایش پیدا می‌کند (۳۴). کاروتنوئیدها علاوه بر نقش ساختمانی و جذب نور می‌توانند به طور مستقیم اکسیژن آزاد را غیر فعال کنند (۵). خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی در بافت گیاه با وجود سیستم‌های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی کاهش می‌یابد. کاروتن‌ها بخش مهمی از سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه را تشکیل می‌دهند، اما به تخریب اکسیدکننده‌ها خیلی حساس هستند. بتاکاروتن‌ها در کلروپلاست‌های همه گیاهان سبز وجود دارند که به هسته مرکزی کمپلکس‌های سیستم‌های نوری I و II اتصال دارند (۲۴). حفاظت از اثرات زیان‌آور سیستم اکسیژن فعال در این مکان برای وظایف کارکردی کلروپلاست ضروری است (۳۸). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار کودی و تنش خشکی بر غلظت کاروتنوئید برگ انگور معنی‌دار نشد ($P$>0.05). غلظت کاروتنوئید برگ در شرایط بدون تنش خشکی (۱/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به طور معنی‌داری (*P<0.01*) کمتر از شرایط تنش خشکی (۱/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود (جدول ۵).

**اثر ساده تیمار کودی بر غلظت کاروتنوئید برگ انگور**

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تیمار کودی بر غلظت کاروتنوئید برگ معنی‌دار شد ($P$<0.01) (جدول ۳). غلظت کاروتنوئید برگ انگور برای تیمارهای سولفات پتاسیم، بایوچار و کمپوست ۵/۵۹، ۵/۵۹ و ۵/۶۹ میلی‌گرم برگرم به دست آمد. غلظت کاروتنوئید برگ بین تیمارهای آلی و تیمار کود شیمیایی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمارهای کودی و تنش خشکی بر غلظت روی برگ انگور ($P$<0.01) معنی‌دار شد. روی در فعالیت های آنزیم، انتقال انرژی، سنتز پروتئین و حفظ ساختمان پروتئین و اعضای سلول نقش دارد (۷). روی با افزایش سطوح اکسین باعث افزایش رشد ریشه شده که به نوبه خود باعث افزایش تحمل به خشکی گیاهان می‌شود. از طرفی با کاهش فعالیت NADPH اکسیداز متصل به غشاء باعث کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش صدمه اکسیداسیون نوری می‌شود؛ در حالی که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد (۵۴). بنابر نتایج این پژوهش در شرایط تنش خشکی و با کاربرد کودها، اگرچه کاهش معنی‌دار غلظت روی برگ انگور در تیمارهای کودی در مقایسه با شرایط بدون تنش خشکی دیده شد، در شرایط تنش خشکی در تیمارهای کودی سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با تیمارهای شاهد و بایوچار ($P$>0.05)، غلظت روی برگ انگور به طور معنی‌دار ($P$<0.01) بیشتر بود (جداول ۶ و ۷).

## نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که با کاربرد تیمارهای کودی مورد مطالعه افزایش معنی‌داری در غلظت‌های کلروفیل *a*، *b* و کل همچنین کاروتنوئید برگ انگور دیده شد. بین تیمارهای کودی از نظر محتوی رطوبت نسبی، غلظت کلروفیل *a* و کارتنوئید برگ اختلاف معنی‌داری دیده نشد. اگرچه مقدار کلروفیل *b* و کل در تیمارهای کمپوست و بایوچار از تیمار سولفات پتاسیم بیشتر بود، افزایش نسبت کلروفیل *a* به *b* به ترتیب در تیمارهای بایوچار، سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با تیمار شاهد تغییر کرد.

**جدول ٦- تجزیه واریانس اثر کاربرد سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار بر میزان عناصر برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی**

**Table 6- ANOVA for of the effect of potassium sulfate, compost, and biochar application on elements content of grapevine leaves cv. 'Bidane-Ghermez' under drought stress conditions**

| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی df | N | P | K | Ca | Mg | Fe | Zn | Cu | Mn | $\frac{K}{Mg}$ | $\frac{K}{Ca+Mg}$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| بلوک Block | 3 | $0.00^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $0.01^{ns}$ | $0.02^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $8.37^{ns}$ | $3.86^{ns}$ | $1.29^{ns}$ | $714.57^{ns}$ | $0.035^{ns}$ | $0.01^{*}$ |
| تنش خشکی Drought stress | 1 | $0.32^{**}$ | $0.06^{**}$ | $0.37^{**}$ | $0.46^{**}$ | $0.05^{**}$ | $3015.69^{**}$ | $1675.48^{**}$ | $55.12^{**}$ | $4605.60^{*}$ | $0.021^{ns}$ | $0.00^{ns}$ |
| کود Fertilizer | 3 | $0.13^{**}$ | $0.12^{**}$ | $1.13^{**}$ | $0.62^{**}$ | $0.051^{**}$ | $4770.80^{**}$ | $5882.02^{**}$ | $173.14^{**}$ | $10584.65^{**}$ | $9.96^{**}$ | $0.40^{**}$ |
| تنش خشکی× کود Drought stress fertilizer | 3 | $0.09^{**}$ | $0.03^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $0.00^{ns}$ | $0.01^{**}$ | $273.87^{**}$ | $316.39^{**}$ | $16.41^{**}$ | $257.99^{ns}$ | $0.68^{**}$ | $0.00^{ns}$ |
| خطا Error | 21 | 0.01 | 0.00 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 23.99 | 20.02 | 1.08 | 592.82 | 0.036 | 0.00 |
| ضریب تغییرات CV (%) | | 3.48 | 9.74 | 8.41 | 5.68 | 13.42 | 9.18 | 11.12 | 6.27 | 8.41 | 6.20 | 7.87 |

*، ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

$^{*,\ **}$ and $^{ns}$ significant at 5%, 1% and non-significant, respectively

**جدول ۷- اثر متقابل کاربرد کود (سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار) ×تنش خشکی بر میزان عناصر برگ انگور 'رقم بیدانه قرمز'**

**Table 7- Interaction effect of fertilizers (potassium sulfate, compost, and biochar)× drought stress on elements content of grapevines leaf cv. 'Bidane-Ghermez'**

| تنش خشکی Drought stress | تیمار کودی Treatment | N (%) | Mg ($mg.kg^{-1}$) | Fe ($mg.kg^{-1}$) | Zn ($mg.kg^{-1}$) | Cu ($mg.kg^{-1}$) | K (µg) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control (80 % FC) | عدم مصرف کود Control | 3.36b | 0.54a | 44.25d | 17.29e | 11.97ef | 1.85g |
| | سولفات پتاسیم Potassium sulfate | 3.76a | 0.36bc | 59.47c | 84.74a | 14.77d | 3.24c |
| | کمپوست Compost | 3.84a | 0.38bc | 106.68a | 60.88c | 23.62a | 2.84d |
| | بایوچار Biochar | 3.50b | 0.41b | 41.78de | 27.03d | 21.07b | 4.34b |
| تنش خشکی Drought stress (40 % FC | عدم مصرف کود Control | 3.36b | 0.34bc | 35.20ef | 15.86e | 11.05f | 2.29f |
| | سولفات پتاسیم Potassium sulfate | 3.36b | 0.34bc | 39.55de | 68.04b | 12.60e | 2.70de |
| | کمپوست Compost | 3.48b | 0.36bc | 71.05b | 30.02d | 16.82c | 2.49ef |
| | بایوچار Biochar | 3.46b | 0.32c | 28.72f | 18.13e | 20.47b | 5.00a |

سولفات پتاسیم (۱/۲۵گرم بر کیلوگرم)، کمپوست (پنج درصد وزنی)، بایوچار (ده درصد وزنی). در هر ستون میانگین هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشند.

Fertilizers: potassium sulfate (10 $g.pot^{-1}$), compost (5% w/w), biochar (10% w/w). Means with the same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level based on DMRT.

**جدول ۸- اثر سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار بر میزان عناصر برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'**

**Table 8- The effects of potassium sulfate, compost, and biochar on element content of grapevines leaf cv. 'Bidane-Ghermez'**

| تیمارها Treatments | P (%) | K (%) | Ca (%) | Mn (mg.kg$^{-1}$) | $\frac{K}{Ca+Mg}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد Control | 0.43c | 0.88c | 1.30c | 263.59b | 0.51b |
| سولفات پتاسیم Potassium sulfate | 0.40c | 1.04b | 1.86a | 341.64a | 0.47bc |
| کمپوست Compost | 0.55b | 0.95bc | 1.86a | 286.61b | 0.43c |
| بایوچار Biochar | 0.67a | 1.69a | 1.48b | 265.61b | 0.91a |

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند دارای تفاوت آماری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن نمی‌باشند.

Means with the same letter in each column are not significantly different at 5% of probability levels based on DMRT.

در شرایط تنش خشکی کاربرد کودها باعث افزایش غلظت عناصر غذایی در برگ انگور شد. این افزایش برای عناصر مختلف و تیمارهای کودی مختلف متفاوت بود. به طور کلی، با کاربرد بایوچار در مقایسه با کمپوست و سولفات پتاسیم، غلظت عناصر پر مصرفی همچون فسفر، پتاسیم، منیزیم و همچنین نسبت‌های پتاسیم به منیزیم و پتاسیم به کلسیم و منیزیم و غلظت عناصر کم مصرف مانند مس برگ انگور به طور معنی‌داری بیشتر بود. با کاربرد کمپوست غلظت آهن برگ انگور به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای بایوچار و سولفات پتاسیم بود. با کاربرد سولفات پتاسیم غلظت روی و منگنز برگ انگور بیشتر از تیمارهای بایوچار و کمپوست به دست آمد. بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که با کاربرد بایوچار در مقایسه با دو کود دیگر فراهمی عناصر غذایی بهتر بوده در نتیجه نسبت کروفیل $a$ به $b$ در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط بدون کاربرد کود بهبود یافت و در نهایت در وزن خشک برگ انعکاس یافت. براساس یافته‌های این پژوهش برای کاهش اثرات منفی تنش خشکی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و وزن خشک برگ انگور کاربرد بایوچار توصیه می‌شود. پس از بایوچار سولفات پتاسیم و کمپوست توصیه می‌شود. صفری و همکاران (۴۳) گزارش کردند که سدیم قابل جذب خاک با کاربرد سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با شاهد به ترتیب ۸/۵۳ و ۶۰/۵۲ درصد افزایش و با کاربرد بایوچار ۳/۷۳ کاهش یافت (۴۳). بنابراین، کاربرد طولانی مدت کمپوست در شرایط تنش خشکی ممکن است به تجمع سدیم تبادلی و تخریب ساختمان خاک و مسمومیت گیاه منجر شود.

## منابع


1- Abdulraheem Z., and Hadi R. 2017. Effect of some organic nutrients and NPK on growth properties and leaves content of some nutrients of grape transplants cv. Summer Royal. The Iraqi Journal of Agricultural Science 48: 1169-1175.

2- Agricultural statistical report. 2020. The statistics of area under cultivation, production, and yield of horticulture productions. (In Persian)

3- Ahmadi A., and Siosemardeh A. 2005. Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non-stomatal limitations. International Journal of Agriculture and Biology 7(5): 807-811.

4- Ali S., Rizwan M., Qayyum M.F., Ok Y.S., Ibrahim M., Riaz M., Arif M.S., Hafeez F., Al-Wabel M.I., and Shahzad A.N. 2017. Biochar soil amendment on alleviation of drought and salt stress in plants: a critical review. Environmental Science and Pollution Research 24: 12700-12712.

5- Amini Z., and Haddad R. 2014. Role of ohotosynthetic pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. Journal of Molecular and Cellular Research (Iranian Journal of Biology) 26(3): 251-265. (In Persian with English abstract)

6- Aran M., Abedi B., Tehranifar A., and Parsa M. 2017. Effects of drought stress and rewatering on some morphological and physiological properties of three grapevine cultivars. Journal of Horticultural Sciences 31(2). 315-326. (In Persian with English abstract)

7- Aravind P., and Prasad M.N.V. 2004. Zinc protects chloroplasts and associated photochemical functions in cadmium exposed *Ceratophyllum demersum* L. a freshwater macrophyte. Plant Science 166 (5): 1321-1327.

8- Atkinson C.J., Fitzgerald J.D., and Hipps N.A. 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits

from biochar application to temperate soils: a review. Plant and Soil, 337(1-2): 1-18.
9- Azizi H., Hassani A., Abbaspour N., Rasouli Sadaghiani M., Doulati Baneh H. 2017. Effect of foliar application of potassium silicate and zinc sulphate on some physiological parameters of two grapevine cultivars under salt stress conditions Iranian Journal of Horticultural Sciences (Iranian Journal of Agricultural Sciences) 47: 797-810 (In Persian with English abstract)
10- Barker A.V., and Pilbeam D.J. 2015. Handbook of Plant Nutrition. CRC press. 773.
11- Baronti S., Vaccari F.P., Miglietta F., Calzolari C., Lugato E., Orlandini S., Pini R, Zulian C., and Genesio L. 2014. Impact of biochar application on plant water relations in *Vitis vinifera* (L.) European Journal of Agronomy 53:38–44.
12- Biederman L.A., and Harpole W.S. 2013. Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. GCB Bioenergy 5(2): 202-214.
13- Cakmak I. 2002. Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. In Progress in Plant Nutrition: Plenary Lectures of the XIV International Plant Nutrition Colloquium 3-24.
14- Conesa M.R., de la Rosa J.M., Domingo R., Bañon S. and Pérez-Pastor A. 2016. Changes induced by drought stress on water relations, stomatal behaviour and morphology of table grapes (cv. Crimson Seedless) grown in pots. Scientia Horticulturae 202: 9-16.
15- Everitt J.H., Richardson A.J., and Gausman H.W. 1985. Leaf reflectance–nitrogen- chlorophyll relations in buffelgrass. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing 51(4): 463-466.
16- Ewulo B.S. 2005. Effect of poultry dung and cattle manure on chemical properties of clay and sandy clay loam soil. Journal of Animal and Veterinary Advances 4(10): 839-841.
17- FAO. 2020. Production statistics crops processed. knoema.com.
18- Fuertes A.B., Arbestain M.C., Sevilla M., Macia J.A., Fiol S., Lopez R., Smernik R.J., Aitkenhead W.P., Arce F., and Macìas, F. 2010. Chemical and structural properties of carbonaceous products obtained by pyrolysis and hydrothermal carbonisation of corn stover. Soil Research 48(7): 618-626.
19- Genesio L., Miglietta F., Baronti S., and Vaccari F.P. 2015. Biochar increases vineyard productivity without affecting grape quality: Results from a four years field experiment in Tuscany. Agriculture, Ecosystems and Environment 201: 20-25.
20- Ghaderi N., Talaei A., Ebadi A., and Lesani H. 2010. Study of some physiological characteristics in'Sahani','Bidane-sefid'and'Farkhii'grapes during drought stress and their subsequent recovery. Iranian Journal of Horticultural Science 41(2): 179-188. (In Persian with English abstract)
21- Ghaserldashti A., Balochi H.R., Iadoi A.R., and Ghobadi M. 2014. The effect of application of different levels of municipal waste compost and nitrogen fertilizer on the concentration of some elements of sweet corn seeds and (*Zea mays* L. saccharata) soil characteristics in Marvdasht conditions. Journal of Agricultural Ecology 6(1): 118-129.
22- Ghosh P.K., Ramesh P., Bandyopadhay K. K., Tripathi A.K., Hati K. M., and Misra A. K. 2004. Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and systems in performance. Bioresource Technology 95: 77-83.
23- Hasani A. 2003. The effects of moisture stress and salinity of sodium chloride on some morphological and physiological characteristics of basil. Tarbiat Modarres University. (In Persian)
24- Havaux M .1998. Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts Trends Plant Sci. 3:147-151.
25- Jackson R.S. 2008. Wine science: principles and applications. Academic press.
26- Jalili Marandi R. 2010. Tiny fruits. Iranian Students Booking Agency, unit of Urmia, 297 pp. (In Persian)
27- Jeffery S., Verheijen F.G., Bastos A.C., and Velde M. 2014. A comment on ‘Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis': on the importance of accurate reporting in supporting a fast-moving research field with policy implications. GCB Bioenergy 6(3): 176-179.
28- Joseph S., Graber E.R., Chia C., Munroe P., Donne S., Thomas T., Nielsen S., Marjo C., Rutlidge H., Pan G.X., and Li L. 2013. Shifting paradigms: development of high-efficiency biochar fertilizers based on nano-structures and soluble components. Carbon Management 4(3): 323-343.
29- Kammann C.I., Linsel S., Gößling J.W., and Koyro H.W. 2011. Influence of biochar on drought tolerance of Chenopodium quinoa Willd and on soil–plant relations. Plant and Soil 345(1-2): 195-210.
30- Kaur T., Brar B.S., and Dhillon N.S. 2008. Soil organic matter dynamics as affected by long-term use of organic and inorganic fertilizers under maize–wheat cropping system. Nutrient Cycling in Agroecosystems 81(1): 59-69.
31- Lawlor D.W., and Cornic G. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plant. Plant, Cell and Environment 25: 275-294.
32- Minazadeh R., Karimi R., Mohammadparast B. 2018. The effect of foliar nutrition of potassium sulfate on morpho-physiological indices of grapevine under salinity stress. Iranian Journal of Plant Biology 10:83-106. (In Persian with English abstract)
33- Moayedinezhad A., Mohammadparast B., Hosseini Salekdeh G., Nejatian M.A., and Mohseni Fard E. 2019. Effect

of drought stress on some physiological and biochemical characteristics of two grapevine cultivars. Journal of Plant Process and Function 8: 377-390. (In Persian with English abstract)

34- Navabpour S., Ramezanpour S.S., and Mazandarani A. 2016. Evaluation of enzymatic and non-enzymatic defense mechanism in response to drought stress during growth stage in soybean Plant Products Technology (Agricultural Research) 15: 39-54. (In Persian with English abstract)

35- Nourzad S., Ahmadian A., Moghaddam M., Daneshfar E. 2014. Effect of drought stress on yield, yield components and essential oil in coriander (*Coriandrum sativum* L.) treated with organic and inorganic fertilizers Journal of Crops Improvement (Journal of Agriculture) 16: 289-302. (In Persian with English abstract)

36- Porra R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls *a* and *b*. Photosynthesis Research 73(1-3): 149-156.

37- Pushpavathi Y., Satisha J., Satisha G.C., and Reddy M.L. 2021. Influence of potassium fertilization on yield, petiole and soil nutrient status of table grape cv. Sharad seedless. Journal of Plant Nutrition 1-11. doi:10.1080/01904167.2021.1889595.

38- Prochazkova D., Sairam R.K., Srivastava G.C., and Singh D.V. 2001.Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. Plant Science 161(4): 765–771.

39- Rascio A., Russo M., Mazzucco L., Platani C., Nicastro G., and Di Fonzo N. 2001. Enhanced osmotolerance of a wheat mutant selected for potassium accumulation. Plant Science 160(3): 441-448.

40- Rodrigo-Moreno A., Andres-Colas N., Poschenrieder C., Gunse B., Penarrubia L and Shabala S. 2013. Calcium- and potassium-permeable plasma membrane transporters are activated by copper in Arabidopsis root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical production. Plant, Cell and Environment 36(4): 844-855.

41- Roosta H.R., Estaji A., and Niknam F. 2018. Effect of ferrous, zinc and manganese shortage-induced change on photosynthetic pigments, some osmoregulators and chlorophyll fluorescence parameters in lettuce. Photosynthetica 56(2): 606-615.

42- Sadeghi A.A., Bakhsh Kelarestaghi K., Hajmohammadnia Ghalibaf K. 2014. The effects of vermicompost and chemical fertilizers on yield and yield components of marshmallow (*Altheae officinalis* L.). Journal of Agroecology 6(1): 42-50. (In Persian with English abstract)

43- Safari A., Fatemi A., Saiedi M., and Kolahchi Z. 2020. Effect of fertilizer management systems and water stress conditions on nutritional status of grapes (a greenhouse study). Journal of Soil Management and Sustainable Production 10(1): 119-136. (In Persian with English abstract)

44- Sala F., and Blidariu C. 2012. Macro- and micronutrient content in grapevine cordons under the influence of organic and mineral fertilization. Bulletin UASVM Horticulture 69(1): 317-324.

45- Sekabira K., Oryemndash H., Mutumba G., Kakudidi E., and Basamba T.A. 2011. Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* (L) and *Cynodon dactylon* (L) growing in urban stream sediments. International Journal of Plant Physiology and Biochemistry 3(8): 133-142.

46- Shams H., Naghdi Badi H., Omidi H., Rezazadeh S., Sorooshzadeh A., and Sahandi M. 2009. Quantitative and qualitative changes of borage influenced by foliar spray of calcium nitrate. Journal of Medicinal Plants 4: 138-144. (In Persian with English abstract)

47- Siosemardeh A., Ahmadi A., Poustini K., and Ebrahimzadeh H. 2003. Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. Iranian Journal of Agricultural Science 34:93-106. (In Persian)

48- Soukhtesaraee R., Ebadi A., Salami S.A, and Lesani H. 2017. Evaluation of oxidative parameters in three grapevine cultivars under drought stress. Iranian Journal of Horticultural Science 48: 85-98. (In Persian with English abstract)

49- Spoor W. 2001. Domestication of plants in the Old World. 316 pp. New York: Oxford University Press.

50- Sun X.P., Yan H.L., Kang X.Y., and Ma F.W. 2013. Growth, gas exchange, and water-use efficiency response of two young apple cultivars to drought stress in two scion-one rootstock grafting system. Photosynthetica 51(3): 404-410.

51- Vaccari F.P., Maienza A., Miglietta F., Baronti S., Di Lonardo S., Giagnoni L., Lagomarsino A., Pozzi A., Pusceddu E., Ranieri R., and Valboa G. 2015. Biochar stimulates plant growth but not fruit yield of processing tomato in a fertile soil. Agriculture, Ecosystems and Environment 207: 163-170.

52- Vinceković M., Maslov Bandić L., Jurić S., Jalšenjak N., Čaić A., Živičnjak I., Đermić E., Karoglan M., Osrečak M., and Topolovec-Pintarić S. 2019. The enhancement of bioactive potential in *Vitis vinifera* leaves by application of microspheres loaded with biological and chemical agents. Journal of Plant Nutrition 42: 543-558.

53- Waraich E. A., Ahmad R., and Ashraf M. Y. 2011. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. Australian Journal of Crop Science, 5(6): 764–777.

54- Weatherely P.E. 1950. Studies in water relation on cotton plants, the field measurement of water deficit in leaves. New Phytologist 49: 81- 87.

55- Wilhelm M., Eberwein G., Holzer J., Gladtke D., Angerer J., Marczynski B., Behrendt H.H., Ring J., Sugiri D., and Ranft U. 2007. Influence of industrial sources on children’s health-hot spot studies in North Rhine Westphalia, Germany. International Journal of Hygiene and Environmental Health 210(5): 591- 599.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 267-281
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۸۱-۲۶۷
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Some Biochemical Characteristic Changes of Grapevine 'Bidane-Ghermez' Influenced by Drought Stress using Organic and Inorganic Fertilizers

**A. Safari[1]- A. Fatemi[2*]- M. Saiedi[3]- Z. Kolahchi[4]**
Received: 24-06-2020
Accepted: 10-03-2021

**Introduction:** the lack of water resources in arid and semi-arid regions is one of the most important limiting factors of the growth of plants, especially fruit trees. Grapevines are one of the most important horticultural products in the world as well as in Iran. The water content of plant tissues, their growth, and the availability of different nutrients in the soil are significantly reduced under water stress conditions. Therefore, the successful production of the plant under water stress conditions depends on the management of plant nutrition. By application of organic and chemical fertilizers, the physical, chemical, and biological properties of soil can be improved. Besides, it can reduce the adverse effects of drought stress conditions.

**Materials and Methods:** To evaluate the effect of compost, biochar, and potassium sulfate application on dry matter, relative water content (RWC), chlorophyll *a*, *b*, total, and carotenoid contents, as well as the concentration of macro-and micronutrients of leaves of grapevines 'Bidane-Ghermez' under two drought stress conditions, this experiment, was conducted in the research greenhouse during 2017-2018. The experiment was carried out as a factorial experiment based on a randomized complete block design (RCBD) with two factors and four replications. The first factor, without drought stress conditions (80% field capacity (FC)), and drought stress conditions (40% FC), and fertilizer treatments included potassium sulfate (1.25 $g.kg^{-1}$), compost (5 % w/w), and biochar (10% w/w).

**Results and Discussion:** The results of the analysis of variance (ANOVA) showed that the interaction effect of drought stress ×fertilizers application was not significant for dry matter, and RWC ($P$>0.05). Also, the results of ANOVA indicated that the simple effect of drought stress conditions was not significant for dry matter but the simple effect of fertilizer application was significant for leaf dry matter ($P$<0.01). Without drought stress conditions, there were no significant differences in leaf dry matter between different fertilizer treatments. However, under drought stress conditions, the highest dry matter of grapevine leaves was observed in biochar, compost, and potassium sulfate, respectively. Also, there were no significant differences in leaf dry matter of grapevine between biochar treatment under drought stress conditions and all fertilizer treatments without drought stress conditions. The simple effect of drought stress conditions was significant for leaf dry matter ($P$<0.05). The results of ANOVA revealed that the interaction effect of drought stress ×fertilizer application was not significant for chlorophyll *a, b*, total, and carotenoid contents of grapevine leaves. However, the simple effects of drought stress conditions and fertilizer application were significant for chlorophyll *a*, *b*, total, and carotenoid contents of grapevine leaves ($P$<0.01). Relative water, chlorophyll a and carotenoid contents of grapevine leaves were not significantly different among fertilizers treatments. The increase of chlorophyll *a*/*b* ratio compared with control was changed in order biochar>potassium sulfate>compost. Moreover, the interaction effect of drought stress ×fertilizer application was significant for nitrogen (N), magnesium (Mg), ferrous (Fe), zinc (Zn), and copper (Cu) concentrations of grapevine leaves ($P$<0.01). The ANOVA indicated that the simple effects of drought stress conditions and fertilizer application had a significant effect (P<0.01) on macro- and micro-elements concentrations of grapevine leaves. By application of biochar, the concentration of P, K, Mg, and Cu of grapevine leaves significantly were higher than compost and potassium sulfate applications. This consequently resulted in higher chlorophyll *a*/*b* ratio and dry matter of grapevine leaves in biochar treatment for control under drought stress conditions.

**Conclusion:** Based on the results of this research, it can be concluded that the application of fertilizers reduced drought stress effects on biochemical characteristics and dry matter of grapevine leaves. According to

1 and 2- Graduated M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.fatemi@razi.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agronomy, Razi University, Kermanshah
4- Assistant Professor, Department of Soil Science, Bu Ali Sina University, Hamadan
DOI: 10.22067/jhs.2021.61898.0

the results, at first the application of biochar is recommended, then potassium sulfate and compost. Our previous results indicated that by application of compost, the available sodium (Na) of soil was increased 8.53 and 60.52 % for potassium sulfate and compost treatments compared to control, respectively. While, by application of biochar, the available Na of soil reduced 3.73 % in comparison with control. This finding is so important regarding the Na effects on soil structure, the toxicity of Na for plants as well as the interaction between Na and K. Considering K is a critical element to regulate the water content of plant tissue and reduces the hazards of water stress conditions, the higher concentration of Na prevents K uptake from the soil solution by plant.

**Keywords:** Biochar, Carotenoid, Chlorophyll, Compost, Potassium sulfate

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 283-300
ISSN: 2008 - 4730

**نشریه علوم باغبانی** (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۰۰-۲۸۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

**مقاله پژوهشی**

# بررسی اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر ویژگی‌های رشدی، زایشی و بیوشیمیایی گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) رقم 'دلفوس'

**محبوبه زمانی پور[1]***

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۷/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۶

## چکیده

ویتامین‌ها از مواد طبیعی ساخته شده‌اند و به‌منظور رشد، عملکرد و بهبود سطح تغذیه گیاهان مناسب هستند. هدف از ایـن مطالعـه، بررسـی اثـرات سطوح مختلف پیرودکسین (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر)، تیامین (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، اسید فولیک (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گـرم بـر لیتر)، و ترکیب این ویتامین‌ها بر روی رشد، عملکرد و ویژگی‌های شیمیایی گیاه گوجه فرنگی . این پژوهش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصـادفی در سه تکرار در گلخانه دانشگاه ولایت ایرانشهر طی سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۳۹۹ اجرا شد. نتایج نشان دادند که تمامی غلظت‌های پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک به کار برده شده سبب افزایش پارامترهای رشدی نسبت به شاهد شدند، و بیشترین ارتفاع گیاه (۲۷۱ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۷ سانتی‌متـر)، تعـداد برگ (۳۱ عدد)، وزن تر (۵۰۲ گرم) و خشک گیاه (۳۴۱/۶۶ گرم) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر پیرودکسین+ ۱۰۰ میلی گرم بـر لیتـر تیـامین+ ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید فولیک ایجاد شد. روابط متقابل سطوح ویتامین‌های B در سطوح کم، متوسط و زیاد اثر معنی‌داری بـر پارامترهـای زایشـی گیـاه گوجه فرنگی داشت، به‌طوری‌که بیشترین تعداد گل (۴۱/۳۳)، تعداد میوه (۲۹/۵۵)، تعداد خوشه (۹/۷۷)، قطر میوه (۲۲/۴۴ میلی‌متر)، وزن تر میوه (۱۵۸ گرم)، وزن خشک میوه (۱۰/۸۱ گرم) و عملکرد (۵۶۸۸/۹۶۶۷ گرم در بوته) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک مشاهده شد. هم‌چنین، تمامی غلظت‌های به کـار بـرده شـده پیرودکسـین، تیـامین و اسـید فولیـک سـبب افـزایش پارامترهای بیوشیمیایی نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان pH (۴/۷۸)، اسیدیته (۰/۲۸ درصد)، مواد جامـد محلـول (۳/۹۳ درصـد)، لیکـوپن (۲/۶۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، محتوای فنول کل (۶۶/۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، ویتامین ث (۱۳/۳۶ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)، کلروفیل a (۱/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۳/۳۳ میلی گرم بر گـرم وزن تـر) بـا کـاربرد ترکیـب ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک به‌دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** تغذیه، رشد، عملکرد، گوجه فرنگی، ویتامین

## مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) گیاهی چندسـاله، متعلق به تیره بادمجان می‌باشد که سرشار از ترکیبات آنتی‌اکسـیدانی، لیکوپن، پلی‌فنول‌ها و ویتـامین ث اسـت (۶). گوجـه فرنگـی در اکثـر کشورهای دنیا، به‌جز مناطق بسیار سـرد، کشـت مـی‌شـود و همـواره رسیدن به حداکثر تولید کمی و کیفی در واحد سطح از جملـه اهـداف اصلی کشت و کار این محصول بوده است (۲۹). کشور ایران با تولیـد ۵/۲۴ میلیون تن رتبه ششم جهانی تولیـد گوجـه فرنگـی را بـه خـود اختصاص داده است. بنا بر آخـرین گـزارش بـه‌دسـت آمـده در سـال ۲۰۱۹، میزان کل سطح زیر کشت گوجـه فرنگـی در ایـران ۱۲۱۲۰۳ هکتار بود که با عملکرد متوسط ۴۳/۳۰۶۷ تن در هکتار، دارای تولیـد سالیانه ۵۲۴۸۹۰۴ تن می‌باشد (۲۴). آبیاری و تغذیه مناسـب از جملـه عوامل محیطی هستند که تولید و عملکرد گوجه فرنگی را تحت تاثیر خود قرار می‌دهند (۵۹).

گزینش راهکار مناسب به‌منظور مدیریت بهتر تغذیـه گیـاه جهـت افزایش کمیت و کیفیت محصول اهمیت دارد. افزایش مواد تغذیـه‌ای به محیط کشت گیاه سبب جذب بیشتر کربن توسط گیاه می‌شود و با

۱- استادیار، گروه کشاورزی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه ولایت، ایرانشهر، ایران

(*- نویسنده مسئول: Email: m.zamanipour@velayat.ac.ir)

DOI: 10.22067/jhs.2021.61961.0

تحریک گیاه از طریق دسترسی به نور بیشتر به‌دلیل افزایش میزان فتوسنتز، افزایش رشد گیاه را فراهم می‌کند (۴۴ و ۴۷). ویتامین‌ها تنظیم‌کننده‌های زیستی هستند که می‌توانند به‌طور ویژه از طریق متابولیسم اولیه و ثانویه سبب رشد گیاه شوند (۹). کاربرد برگی تیمارهای ویتامین ممکن است نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی داشته باشند که بر فرآیند متابولیسم فتوسنتز تاثیر گذاشته و منجر به افزایش مواد جامد محلول و مواد معدنی شده باشد (۵۳). اثر متقابل ویتامین‌ها سبب بهبود عمل مواد بیوشیمیایی در متابولیسم آمینواسیدها و سنتز نوکلئیک اسید می‌شود (۱۰). هنداوی و ایز ال-دین (۳۱) گزارش کرد که ویتامین ب کمپلکس به‌عنوان کوآنزیم در واکنش‌های آنزیمی مانند کربوهیدرات، اسیدهای چرب و پروتئین‌ها بوده که درگیر در فتوسنتز و تنفس است. بعلاوه، عبدل ال-حکیم (۱) گزارش کردند که برخی از آنتی اکسیدان‌ها سبب بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی در برخی لوبیاها شدند.

پیرودکسین (ویتامین B6) به‌شکل پیرودکسال ۵- فسفات[1] فعال بوده که متابولیت ضروری در تمامی ارگانیسم‌ها است. این ویتامین می‌تواند به‌عنوان یک کوآنزیم برای آنزیم‌های متابولیکی فراوانی عمل نماید و اخیرا به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی شناخته شده است (۱۸ و ۴۹). حامادا و خولائف (۲۸) دریافتند که محلول‌پاشی نهال‌های بذری لوبیا قرمز ۲۵ روزه، با ۱۰۰ پی پی ام پیرودکسین سبب افزایش وزن تر و خشک، بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی و سرعت فتوسنتز شدند. خان و همکاران (۳۴) گزارش کردند که کاربرد ۰/۰۲ درصد پیرودکسین برای ارقام گندم سبب افزایش پارامترهای رشدی و عملکردی شد. کارایی پیرودکسین روی رشد و عملکرد بالای لوبیا مصری توسط بغدادی (۱۴) گزارش شده است. آن‌ها دریافتند که کاربرد برگی ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین سبب افزایش ارتفاع و قطر ساقه، تعداد شاخه، تعداد غلاف‌ها و میزان پروتئین لوبیا مصری رقم Giza-1 شد.

ناصر و همکاران (۴۳) در بررسی کاربرد برگی غلظت‌های مختلف پیرودکسین (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر روی ویژگی‌های رشدی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و عملکرد گیاه کنجد رقم Shandaweel-3 گزارش کردند که تمامی غلظت‌های به‌کار برده پیرودکسین به غیر از غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش ویژگی‌های رشدی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و عملکرد شدند. بیشترین ارتفاع گیاه، تعداد برگ، وزن تر و خشک گیاه، کلروفیل a، b و کارتنوئید در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین مشاهده شد.

تیامین[2] به‌عنوان یک ویتامین محلول در آب، توسط گیاهان و میکروب‌ها تولید می‌شود. این ترکیب به‌صورت آزاد و به شکل فسفره، در ترکیبات تیامین-مونوفسفات، تیامین-پیروفسفات و تیامین-تری فسفات یافت می‌شود (۱۳). تیامین-پیروفسفات به‌عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم‌های درگیر در فرآیندهای متابولیکی از جمله تولید استیل-کوآنزیم A، چرخه تری کربوکسیلیک اسید، گلیکولیز، مسیر پنتوز فسفات، چرخه‌های اسید سیتریک و کالوین عمل می‌کند (۱۵). هم‌چنین، تیامین آسیب DNA را کاهش می‌دهد (۴۷). بعلاوه، کاربرد خارجی تیامین سبب افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله شوری، دماهای بالا و پاتوژن‌های گیاهی می‌شود (۱۵). اثر مثبت تیامین بر روی رشد، عملکرد، سرعت فتوسنتز و مواد غذایی، رنگدانه‌ها، محتوای پروتئین در بسیاری از گیاهان از جمله باقلا (۲۸)، ریحان (۲۳) و گشنیز (۸) گزارش شده است.

فاروک و همکاران (۲۵) در بررسی محلول‌پاشی محرک‌های زیستی و ویتامین‌ها در بهبود ویژگی های رویشی و زایشی گوجه فرنگی گزارش کردند که کاربرد تیامین در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و عصاره جلبک دریایی در غلظت ۵۰۰ میلی گرم بر لیتر سبب افزایش رشد و عملکرد گوجه فرنگی شد.

فولیک اسید[3] به‌عنوان ویتامین B9 شناخته می‌شود. فولیک اسید برای عملکردهای بیوشیمیایی در متابولیسم آمینواسید و سنتز نوکلئیک اسید ضروری است (۱۰). فولیک اسید سبب تولید RNA (نوکلئیک اسیدی که اطلاعات را از DNA به ساختارهای سلول گیاهی ریبوزوم انتقال داده و کمک به سنتز پروتئین در گیاه می‌نماید) در گیاهان می‌شود (۴۵). فولات‌ها کوفاکتورهای ضروری در انتقال کربن به‌عنوان پذیرنده یا اهدا کننده بوده و درگیر در سنتز پورین‌ها، پیریمیدین‌ها و آمینواسیدها می‌باشند (۱۹).

ساخوتا و همکاران (۵۴) و برجریس و همکاران (۱۶) دریافتند که تیمار اسید فولیک سبب افزایش تولید، عملکرد، وزن و کیفیت بذور نخودفرنگی شد و محتوای کلروفیل را در برگ‌ها افزایش داد.

آل- سعید و کمال (۷) گزارش کردند که محلول‌پاشی برگی با فولیک اسید سبب افزایش گلدهی، عملکرد و کیفیت فلفل دلمه‌ای شد. کاربرد خارجی فولیک اسید اثر مثبتی روی رشد، عملکرد و کیفیت سویا (۳۸) و توت فرنگی (۳۵) داشته است. هم‌چنین، ابراهیم و همکاران (۳۲) دریافتند که فولیک اسید سبب بهبود معنی‌دار پارامترهای رشدی شامل طول گیاه سیب زمینی، سطح برگ، وزن خشک، کلروفیل، تعداد غده و عملکرد در مقایسه با شاهد شد. بعلاوه، مواد جامد محلول و پروتئین محلول به‌طور معنی‌داری در برگ‌ها افزایش یافتند. روابط متقابل بین ویتامین‌ها به‌منظور عملکرد بیوشیمیایی در متابولسیم آمینواسیدها و سنتز نوکلئیک اسید ضروری است (۱۰ و ۳۰). ال- قارمانی و همکاران (۲۰) گزارش نمودند که محلول‌پاشی ویتامین‌های B در غلظت‌های مناسب سبب افزایش

1- Pyridoxal 5-Phosphate
2- Thiamine
3- Folic acid

معنی‌دار وزن خشک اندام‌های مختلف گیاه، کلروفیل برگ و عملکرد بذور خشک لوبیای چشم بلبلی شد. هم‌چنین، برجریس و همکاران (۱۶) دریافتند که فولیک اسید در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش رشد و عملکرد نخودفرنگی شد.

یوسف (۵۸) در بررسی محلول‌پاشی برگی کوبالامین (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر)، فولیک اسید (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و آسکوربیک اسید (۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و یا در ترکیب با یکدیگر بر ویژگی‌های رشدی و زایشی سیب زمینی گزارش کردند که محلول‌پاشی این سه نوع ویتامین به‌صورت ترکیبی باعث افزایش رشد رویشی، بهبود عملکرد غده‌ها و کلروفیل کل شد. بهترین نتیجه زمانی حاصل شد که سه بار محلول‌پاشی با ترکیب غلظت‌های متوسط ویتامین‌ها انجام گرفت.

این مطالعه با هدف بررسی اثرات ویتامین های پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر ویژگی های رشدی، زایشی و بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی رقم دلفی انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی پرورش گوجه فرنگی واقع در دانشگاه ولایت ایرانشهر انجام گرفت. طول جغرافیایی منطقه بین ۵۸ درجه و ۴۷ دقیقه تا ۶۳ درجه و ۱۹ دقیقه شمالی، عرض جغرافیایی بین ۲۵ درجه و ۳ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۵۷۱ متر بود. به‌منظور بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده قبل از کاشت، نمونه‌برداری خاک تا عمق ۳۰ سانتی متر از نقاط مختلف مزرعه به‌صورت Z انجام و نمونه مورد نظر به آزمایشگاه ارسال شد. ویژگی های خاک منطقه مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است. رقم گوجه فرنگی مورد آزمایش، 'دلفوس' بود که از شرکت پاکان بذر اصفهان خریداری شد. رقم 'دلفوس' دارای تیپ میوه نسبتا گرد، میوه بسیار بازارپسند، دارای بوته قوی و عملکرد بالا است. در مرداد ماه، با شروع دوره کاشت گوجه فرنگی در گلخانه، کاشت نشاها صورت گرفت و برداشت محصول تا آذرماه به طول انجامید. نشاها روی ردیف‌هایی به عرض ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها ۴۰ سانتی‌متر بر روی بستر خاکی، کشت شدند. آبیاری در گلخانه مورد آزمایش با سیستم قطره ای انجام گرفت. آبیاری نوبت اول بلافاصله بعد از کشت و آبیاری‌های دوم و سوم به فاصله یک روز بعد به‌مدت یک ساعت صورت گرفت و آبیاری‌های بعدی متناسب با رشد نشاها، یک روز در میان تا چهار روز در میان، صورت گرفت. در مرحله ۷-۸ برگی، بوته‌ها به‌صورت عمودی روی نخ هدایت گردیدند. دمای گلخانه در طول آزمایش در روز ۲۵ تا ۳۲ و در شب ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۵۰ درصد بود.

آزمایش به صورت بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. هدف از این مطالعه، پژوهش اثرات سطوح مختلف پیرودکسین (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، تیامین (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و فولیک اسید (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) و ترکیب این ویتامین‌ها در غلظت‌های پایین (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+ ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۵۰ میلی گرم بر لیتر فولیک اسید)، متوسط (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+ ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید) و بالا (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+ ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید) بر روی صفات مورفولوژیکی، پومولوژیکی و بیوشیمیایی گوجه فرنگی بود. ویتامین‌ها از شرکت مرک[1] خریداری شدند. محلول‌پاشی توسط آب‌پاش دستی در دو نوبت: اولی ۳۰ روز بعد از کاشت و دومی دو هفته قبل از تغییر رنگ و رسیدن گوجه فرنگی انجام گرفت. کود مورد استفاده در طول دوره رشد بوته‌ها شامل نیتروژن، فسفر و پتاسیم هر ۱۰ تا ۱۵ روز یک‌بار، به مقدار ۴ تا ۶ کیلوگرم در ۱۰۰۰ متر مربع، محلول‌پاشی کلسیم هر ۱۵ روز یک‌بار، و عناصر آهن، روی، منگنز و بور هر ۱۵ تا ۲۰ روز یک‌بار، هم به‌صورت خاکی و هم محلول‌پاشی، در اختیار گیاهان قرار گرفت. هرس شاخه و برگ‌های اضافی، ۲ تا ۳ مرتبه در طول فصل رشد انجام شد و در طول دوره رشد، عملیات داشت مانند هرس، سمپاشی، آبیاری و تغذیه گیاهان طبق عرف گلخانه انجام گرفت. برداشت میوه با دست و در مرحله بیش از دوسوم تغییر رنگ میوه‌ها انجام شد.

### ثبت داده‌ها

### صفات مورفولوژیکی

نمونه‌ها از سه گیاه از هر تیمار گرفته شده و ویژگی‌های رشد رویشی شامل ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)، قطر ساقه (سانتی‌متر)، تعداد برگ هر گیاه، تعداد گل، وزن تر و خشک شاخه هر گیاه اندازه‌گیری شدند.

### صفات پومولوژیکی

کار برداشت میوه‌ها هر ۶ روز به مدت ۳ ماه انجام شد. معیار برداشت، تکمیل رنگ قرمز بود. در هر برداشت، میوه‌های هر بوته به‌طور جداگانه وزن گردید. تعداد میوه، تعداد میوه در خوشه، تعداد خوشه در بوته، قطر میوه و وزن تر و خشک میوه نیز اندازه‌گیری شد. وزن تر میوه توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم قرائت شد. به‌منظور تعیین وزن خشک، میوه ها در آون ۷۰ درجه قرار گرفتند و پس از رسیدن به وزن ثابت با استفاده از ترازوی دیجیتال، وزن خشک آن ها قرائت شد. قطر میوه نیز توسط کولیس معمولی با دقت ۰/۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

---

1- Merck

**جدول ۱- ویژگی‌های خاک منطقه مورد آزمایش**
**Table 1- Soil characteristics of the tested area**

| بافت خاک Soil texture | pH | هدایت الکتریکی EC ($\mu s.cm^{-1}$) | جرم مخصوص ظاهری Balk density ($g.cm^{-3}$) | رس Clay (%) | سیلت Silt (%) | شن Sand (%) | نیتروژن Nitrogen (ppm) | فسفر Phosphorus (ppm) | پتاسیم Potassium (ppm) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| لومی شنی Sandy loam | 8.1 | 1.7 | 1.5 | 7 | 30 | 61.7 | 45.1 | 3.3 | 270 |

## صفات بیوشیمیایی

جهت تعیین میزان کلروفیل و کارتنوئید برگ‌ها از دستگاه اسپکتوفتومتر (s 2000 uv/vis) در طول موج های ۴۷۰، ۴۶۵ و ۶۶۳ نانومتر استفاده گردید. غلظت کلروفیل و کاروتنوئید بر حسب میلی گرم بر گرم در وزن تر نمونه ($mg.g^{-1}FW$) با استفاده از معادله های زیر محاسبه شد (۱۱).

کلروفیل $a = (12.7 \times A663 - 2.69 \times A645)_{v/1000w}$

کلروفیل $b = (22.9 \times A645 - 4.68 \times A663)v/1000w$

کارتنوئید $= (1000A470 - 1.8\ \text{chlorophyll}\ a - 85.2\ chlorophyll\ b)/198$

از میوه‌های هر تکرار در هر برداشت به‌طور تصادفی تعدادی میوه جدا و در آزمایشگاه، pH آب میوه، مواد جامد محلول کل و میزان ویتامین ث ثبت شد (۴۱). درصد مواد جامد محلول با استفاده از قندسنج (Refractometer) دستی (مدل Abe Model Atago, NAR-3T, Japan) به‌صورت درجه بریکس در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرائت و محاسبه شد (۵۶). برای اندازه‌گیری ویتامین ث از روش تیتراسیون با محلول دی کلرواینددوفنول استفاده شد و به‌صورت میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر بیان گردید (۴۰). میزان اسیدیته قابل تیتراسیون با روش شیمیایی ای.او.ای.سی (AOAC) اندازه‌گیری شد. مقدار اسیدیته کل بر حسب اسید سیتریک محاسبه گردید (۲۶).

درصد اسیدیته = (۱۰۰×۰/۰۰۶۴×V)/۵

در این رابطه، V حجم سود مصرفی برای نمونه است.

عملکرد تک بوته طی چند مرحله و در یک دوره سه ماهه با جمع‌کردن وزن میوه‌های برداشت‌شده تعیین شد. در نهایت عملکرد کل به گرم در هکتار محاسبه گردید (۲۷).

عمل استخراج لیکوپن توسط حلال های هگزان: استون: اتانول با نسبت ۱:۱:۲ و به نسبت ۱: ۱۰ به ماده اولیه و در دمای محیط به مدت ۱۶ ساعت انجام شد. بعد از جدا شدن حلال، مقدار لیکوپن موجود در آن در طول موج ۵۰۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (s 2000 uv/vis) اندازه‌گیری شد. مقدار لیکوپن بر حسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم بافت محاسبه شد (۵۰).

میزان فنول کل میوه با روش فولین سیکالتو اندازه گیری شد (۵۴). عصاره تهیه شده ابتدا در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ قرار گرفت. در مرحله بعد، به ۰/۱ میلی لیتر از قسمت محلول شناور روئی، ۰/۴ درصد فولین ۵۰ درصد اضافه شد. سپس محلول به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد و بعد از ۳ دقیقه، یک میلی لیتر کربنات سدیم ۲ درصد به این محلول اضافه شد، و سپس به مدت ۴۵ دقیقه در محفظه اتاق در دمای تاریک نگهداری گردید و دوباره محلول را به مدت یک دقیقه روی شیکر گذاشته و در نهایت میزان جذب محلول توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت شد و از اسید گالیک به عنوان استاندارد استفاده گردید. میزان ترکیبات فنولی کل از روی منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره بیان شد.

## تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ver. 2016 انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد استفاده شد.

# نتایج و بحث

## پارامترهای رشدی

نتایج تجزیه واریانس اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه فرنگی در جدول ۲ آمده است. کلیه صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شده است (جدول ۲).

### اثرات پیرودکسین بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

نتایج مقایسه میانگین اثرات غلظت‌های مختلف پیرودکسین بر پارامترهای رشدی گوجه فرنگی نشان دادند که تمامی غلظت‌های

محلول‌پاشی‌شده پیرودکسین سبب افزایش پارامترهای رشدی شدند و بیشترین ارتفاع (۲۱۵ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۵/۷۱ سانتی‌متر)، وزن تر (۳۶۷ گرم) و خشک (۲۰۷/۳۳ گرم) گیاه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین ایجاد شد (جدول ۳). این نتایج با گزارشات ناصر و همکاران (۴۳) در گیاه کنجد و حامادا و خولائف (۲۸) در گیاه لوبیا مطابقت دارد. افزایش پارامترهای رشدی توسط پیرودکسین شاید به‌دلیل افزایش مواد غذایی در گیاه باشد (۱۲). کاربرد برگی پیرودکسین می‌تواند سبب افزایش تراوش اسیدهای آلی از منطقه ریشه به درون خاک شود و این عمل منجر به افزایش حلالیت مواد غذایی در منطقه ریزوسفر شده و منجر به جذب بیشتر مواد غذایی به‌وسیله گیاه می‌شود (۲).

### اثرات تیامین بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

کاربرد برگی تیامین به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پارامترهای رشدی گیاه گوجه فرنگی شد و بیشترین ارتفاع (۲۳۴ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۵/۳۳ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۳۳)، وزن تر (۴۰۳ گرم) و خشک (۲۱۴/۶۶ گرم) گیاه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین به‌دست آمد (جدول ۳). این نتایج با گزارشات سعید و گادالاه (۵۱) مطابقت دارد که گزارش کردند تجمع برخی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی ممکن است در پاسخ به کاربرد تیامین افزایش یابد. این موضوع، شاید به‌دلیل تغییر بالقوه آب گیاهان باشد که می‌تواند سبب افزایش فشار تورژسانس شده که برای گسترش سلولی و بنابراین رشد گیاه موثر است.

### اثرات اسید فولیک بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

کاربرد برگی سطوح مختلف اسید فولیک (ویتامین B9) بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه فرنگی، به‌طور معنی‌داری تمامی ویژگی‌های رشدی شامل ارتفاع گیاه (۲۲۹ سانتی‌متر)، قطر گیاه (۵/۳۳ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۲۹/۶۶)، وزن تر (۴۹۵ گرم) و خشک (۳۰۰/۳۳) گیاه را افزایش داد. رشد رویشی به‌طور معنی‌داری با کاربرد برگی اسید فولیک در غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر افزایش یافت (جدول ۳). این نتایج با یافته‌های یوسف (۵۸) در سیب زمینی مطابقت دارد. استاخوا و همکاران (۵۵) گزارش کردند که فولیک اسید سبب افزایش فعالیت بیوسنتز گلیسین شده که به‌نوبه خود سنتز پورفیرین‌ها و کلروفیل را در غشاهای کلروپلاستی افزایش می‌دهد. لی و همکاران (۳۵) گزارش کردند که بیشترین میزان تعداد برگ و وزن تر و خشک گیاه با کاربرد برگی اسید فولیک در غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر و بیشترین تعداد شاخه و تعداد برگ با کاربرد برگی اسید فولیک در غلظت ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد.

### اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تمامی غلظت‌های به کار برده شده پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک سبب افزایش پارامترهای رشدی نسبت به شاهد شدند (جدول ۳). بیشترین ارتفاع گیاه (۲۷۱ سانتی‌متر)، قطر ساقه (۷ سانتی‌متر)، تعداد برگ (۳۱ عدد)، وزن تر (۵۰۲ گرم) و خشک گیاه (۳۴۱/۶۶ گرم) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر پیرودکسین+ ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر تیامین+ ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید فولیک ایجاد شد (جدول ۳). این نتایج با گزارشات ال-قارمانی و همکاران (۲۰) مطابقت دارد که گزارش کردند محلول‌پاشی ویتامین‌ها (B1، B6 و B12) در غلظت‌های مناسب در لوبیا چشم بلبلی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش رشد رویشی در مقایسه با شاهد شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های رویشی گیاه گوجه فرنگی رقم ‘دلفوس’

Table 2- ANOVA for the effect of vitamin application on vegetative characteristics of tomato plant cv.‘Delphus’

| منابع تغییرات S.O.V | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean square | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ارتفاع Height | قطر ساقه Stem diameter | تعداد برگ Leaf number | وزن تر Fresh weight | وزن خشک Dry Weight |
| تکرار Replication | 2 | 13.641** | 9.760** | 13.011** | 502.231** | 114.769** |
| تیمار Treatment | 12 | 837.530** | 2.655** | 91.044** | 21332.132** | 16116.137** |
| خطا Error | 24 | 0.530 | 0.422 | 0.030 | 0.120 | 0.047 |

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

** Significant at 1% of probability level and ns non-significant

**جدول ۳- اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های رویشی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'**

**Table 3- The effect of vitamin application on vegetative characteristics of tomato plant cv. 'Delphus'**

| تیمارها<br>Treatments | ارتفاع بوته<br>Plant height (cm) | قطر ساقه<br>Stem diameter (cm) | تعداد برگ<br>Leaf number | وزن تر بوته<br>Fruit Weight (g) | وزن خشک بوته<br>Dry weight (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 201.00i | 3.00c | 17.00i | 227.00l | 99.33m |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>50 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine | 210.00h | 5.49ab | 18.44h | 317.00k | 165.33l |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>100 mgL$^{-1}$ Pyridoxine | 215.00g | 5.71ab | 29.22e | 367.00i | 207.33j |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>150 mgL$^{-1}$ Pyridoxine | 211.00h | 4.75b | 30.00d | 337.00j | 185.33k |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>50 mgL$^{-1}$ Thiamine | 224.00d | 4.66b | 31.00c | 377.00h | 209.33i |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>100 mgL$^{-1}$ Thiamine | 234.00b | 5.33b | 33.00b | 403.00f | 214.66g |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>150 mgL$^{-1}$ Thiamine | 211.00h | 4.66b | 24.33f | 392.33g | 211.33h |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1% of probability level according to Duncan's multiple rang test.

**ادامه جدول ۳- اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی رقم 'دلفوس'**

**Continue Table 3- The effect of vitamin application on vegetative characteristics of tomato plant cv. 'Delphus'**

| تیمارها<br>Treatments | ارتفاع بوته<br>Plant height (cm) | قطر ساقه<br>Stem diameter (cm) | تعداد برگ<br>Leaf number | وزن تر بوته<br>Fruit weight (g) | وزن خشک بوته<br>Dry weight (g) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>50 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 221.00e | 4.50bc | 22.20g | 437.00e | 253.33f |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>100 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 215.00g | 4.83b | 22.00g | 467.00d | 275.33e |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>150 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 229.00c | 5.33b | 29.66d | 495.00dc | 300.33d |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>50 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +50 mg.L$^{-1}$ Thiamine+50 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 220.66e | 4.16bc | 31.00c | 495.66c | 330.33c |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>100 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +100 mg.L$^{-1}$ Thiamine+100 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 271.00a | 7.00a | 33.55a | 502.00a | 341.66a |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>150 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +150 mg.L$^{-1}$ Thiamine+150 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 218.66f | 4.30bc | 29.00e | 497.00b | 335.33b |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1% of probability level according to Duncan's multiple rang test.

### پارامترهای زایشی

نتایج تجزیه واریانس اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه فرنگی در جدول ۴ آمده است. کلیه صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی دار شده است (جدول ۴).

### اثرات پیرودکسین بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه‌فرنگی

بررسی مقایسه میانگین اثرات پیرودکسین بر پارامترهای زایشی نشان داد که تمامی غلظت‌های به کار برده شده سبب افزایش پارامترهای زایشی شدند و بیشترین تعداد گل (۲۵)، تعداد میوه (۱۹/۶۶)، تعداد خوشه (۶/۶۶)، قطر میوه (۱۶/۸۳ سانتی‌متر)، وزن تر (۸۸/۷۳ گرم) و خشک میوه (۵/۹۵ گرم) و عملکرد (۱۲۴۳/۸۳۴۰ گرم در هر درخت) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد (جدول ۵). ناصر و همکاران (۴۳) گزارش کردند که کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین سبب افزایش ویژگی‌های زایشی و عملکرد گیاه کنجد شد. مشخص شده است که پیرودکسین سبب افزایش رشد ریشه شده و بنابراین منجر به جذب بهتر مواد غذایی و عملکرد اقتصادی بالاتر می‌گردد (۳۶) که با نتایج ما مطابقت دارد.

### اثرات تیامین بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه‌فرنگی

مقایسه میانگین اثرات تیامین بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه فرنگی نشان داد که تمامی غلظت‌های به کار برده شده سبب افزایش پارامترهای زایشی شدند و بیشترین میزان تعداد میوه (۱۷/۶۶)، تعداد خوشه (۶/۶۶)، قطر میوه (۱۶/۶۶ سانتی‌متر)، وزن تر (۱۱۱/۲ گرم) و خشک (۶/۹۰ گرم) میوه و عملکرد (۱۹۶۳/۹۳۳۳ گرم در هر درخت) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین مشاهده شد (جدول ۵). این نتایج با گزارشات فاروک و همکاران (۲۵) مطابقت دارد. افزایش در وزن برگ و ساقه با کاربرد برگی تیامین به‌دلیل این است که تیامین برای تقسیم سلول‌های مریستمی ساقه و سلول‌های اولیه اندام‌ها ضروری است (۳۹). تیامین نقش قابل توجهی در متابولیسم کربوهیدرات از جمله سنتز NADPH و ATP دارد (۴۶). بعلاوه، تیامین به‌عنوان یک کوفاکتور در واکنش‌های آنزیمی بسیاری از جمله مسیرهای متابولیکی مانند گلیکولیز، چرخه کربس، مسیر پنتوز فسفات، چرخه کالوین، متابولسیم آمینواسید، تجمع نیتروژن و سنتز نوکلئیک اسید دخالت دارد (۳۹). بنابراین به‌نظر می‌رسد که رشد و عملکرد بهتر گوجه فرنگی با کاربرد برگی تیامین در ارتباط با تنظیم مناسب فتوسنتز و واکنش‌های تامین انرژی در مقایسه با شاهد باشد.

### اثرات اسید فولیک بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه‌فرنگی

تمامی غلظت‌های اسید فولیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پارامترهای زایشی شدند. بیشترین میزان تعداد گل (۳۲/۶۶)، تعداد خوشه (۹)، قطر میوه (۱۸/۸۳ سانتی‌متر) و وزن تر (۱۱۳/۵۶ گرم) و خشک (۷/۸۳ گرم) گیاه در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر مشاهده شد (جدول ۵). این نتایج با گزارشات آل-سعید و کمال (۷) که گزارش کردند اسید فولیک سبب افزایش گلدهی در فلفل سبز گردید و هم-چنین با نتایج ساخوتا و همکاران (۵۴) و برجریس و همکاران (۱۶) که دریافتند تیمار اسید فولیک سبب افزایش تولید، عملکرد، وزن و کیفیت بذور نخودفرنگی شد، مطابقت دارد.

### اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه فرنگی

نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تمامی غلظت‌های به کار برده شده پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک سبب افزایش پارامترهای زایشی نسبت به شاهد شدند (جدول ۵). روابط متقابل سطوح ویتامین‌های B در سطوح کم، متوسط و زیاد اثر معنی‌داری بر پارامترهای زایشی گیاه گوجه فرنگی داشت، به‌طوری‌که بیشترین تعداد گل (۴۱/۳۳)، تعداد میوه (۲۹/۵۵)، تعداد خوشه (۹/۷۷)، قطر میوه (۲۲/۴۴ میلی‌متر)، وزن تر میوه (۱۵۸ گرم) و وزن خشک میوه (۱۰/۸۱ گرم) و عملکرد (۵۶۸۸/۹۶۶۷ گرم در بوته) در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک مشاهده شد (جدول ۵). از این نتایج این گونه می‌توان استنباط کرد که کاربرد برگی تیمارهای ویتامین ممکن است نقشی مهمی در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی داشته باشد و هم‌چنین در فرآیند متابولسیم فتوسنتز نقش موثری داشته و بنابراین سبب افزایش عملکرد شده است. افزایش در عملکرد و اجزای عملکرد می‌تواند به دلیل افزایش در جذب مواد غذایی و آسیمیلاسیون و افزایش رشد به سبب وجود ویتامین‌ها باشد (۵). نتایج مشابهی توسط القارمانی و همکاران (۲۰) بیان شده است که محلول‌پاشی ویتامین‌ها (B1، B6 و B12) در غلظت‌های مناسب در لوبیا چشم بلبلی به‌طور معنی‌داری سبب افزایش تعداد غلاف‌های هر گیاه و عملکرد کل در مقایسه با شاهد شد. هم چنین، شابالی و ال رامادی (۵۳) و شابانا و همکاران (۵۲) دریافتند که ویتامین‌ها می‌توانند سبب افزایش عملکرد در سیر و گوجه فرنگی شوند.

### پارامترهای بیوشیمیایی

نتایج تجزیه واریانس اثرات پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر پارامترهای بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی در جدول ۶ آمده است. کلیه صفات مورد بررسی در سطح ۱ درصد معنی دار شده است

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر کاربرد ویتامین ها بر ویژگی‌های زایشی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Table 4- ANOVA for the effect of vitamin application on productive charactristics of tomato plant cv. 'Delphus'

| | | میانگین مربعات Mean square | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| منبع تغییرات S.O.V | درجه آزادی DF | تعداد گل Flower number | تعداد میوه Fruit number | تعداد خوشه Pedicle number | قطر میوه Fruit diameter | وزن تر میوه Fruit fresh weight | وزن خشک میوه Fruit dry weight | عملکرد Yield |
| تکرار Replication | 2 | 84.00** | 13.003** | 13.004** | 13.012** | 13.060** | 18.423** | 15.426** |
| تیمار Treatment | 12 | 113.863** | 119.988** | 12.300** | 19.340** | 2662.681** | 10.957** | 4317845.578** |
| خطا Error | 24 | 3.222 | 0.015 | 0.003 | 0.019 | 0.001 | 0.033 | 0.239 |

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

** Significant at 1% of probability level and ns non-significant

### اثرات پیرودکسین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی

بررسی مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف پیرودکسین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی نشان داد که پیرودکسین سبب افزایش ویژگی‌های بیوشیمیایی از جمله pH (۴/۶۰)، اسید کل (۰/۳۹ درصد)، مواد جامد محلول (۲/۸۵ درصد)، لیکوپن (۱/۰۳ میلی گرم بر صد گرم وزن تر)، ویتامین ث (۶/۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب-میوه)، کلروفیل a (۰/۸۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۲/۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) شد (جدول ۷). این نتایج با یافته‌های چن و زانگ (۱۷) و مان-باسک و آلجر (۴۲) که گزارش کردند پیرودکسین سبب محافظت غشاهای کلروپلاستی از اکسیداسیون نوری شده و کوفاکتور ضروری برای آنزیم‌های متابولیکی بسیاری شامل متابولسیم اسیدهای آمینه و بیوسنتز آنتی‌بیوتیک‌ها است، مطابقت دارد.

### اثرات تیامین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گوجه‌فرنگی

مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف تیامین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گوجه فرنگی نشان داد که تمامی غلظت‌های تیامین سبب بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی از جمله pH (۴/۶۵)، مواد جامد محلول (۲/۹۰ درصد)، لیکوپن (۱/۵۰ میلی‌گرم بر صد گرم وزن تر)، فنول کل (۶۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، ویتامین ث (۸/۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه)، کلروفیل a (۱/۲۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۲/۶۶ میلی گرم بر گرم وزن تر) در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر شدند (جدول ۷). یکی از مسیرهای وابسته به تیامین-دی فسفات در سلول گیاهی، سنتز ۲-دی-اکسی-دی-اکسی لولز-۵-فسفات است. این آنزیم در ارتباط با تجمع کلروفیل می‌باشد (۴۶). بنابراین، اثر آنتی‌اکسیدانی داشته که سبب محافظت از تجزیه کلروفیل به‌واسطه حذف اکسیژن فعال می‌گردد (۳۷ و ۵۷). هم‌چنین، کاربرد تیامین سبب فعال‌سازی سنتز کارتنوئیدها شده که از اکسیداسیون کلروفیل محافظت نموده و بنابراین باعث افزایش کلروفیل و بهبود فتوسنتز می‌شود (۲۵ و ۲۸). گزارش شده است که فنول‌های کل در گیاهان سویا افزایش یافت، زمانی‌که تحت تیمار تیامین قرار گرفتند (۴). ردا و همکاران (۴۸) بیان کردند که کاربرد برگی تیامین در غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش محتوای فنول کل در گیاه آویشن شد که با نتایج آزمایشات ما مطابقت دارد.

### اثرات اسید فولیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی

اسید فولیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش همه ویژگی‌های بیوشیمیایی شدند. بالاترین میزان pH (۴/۶۹)، مواد جامد محلول (۳/۲۰ درصد)، فنول کل (۶۳/۳۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، ویتامین ث (۱۰/۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم آب‌میوه)، کلروفیل a (۱/۷۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کارتنوئید (۲/۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک به‌دست آمد (جدول ۷).

جدول ۵- اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های زایشی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Table 5- The effect of vitamin applicationon productive charactristics of tomato plant cv. 'Delphus'

| تیمارها<br>Treatments | تعداد گل<br>Flower number | تعداد میوه<br>Fruit number | تعداد خوشه<br>Pedicle number | قطر میوه<br>Fruit diameter (cm) | وزن تر میوه<br>Fruit fresh weight (g) | وزن خشک میوه<br>Fruit dry weight (g) | عملکرد<br>Yield ($g.tree^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 19.33h | 13.00m | 3.00k | 13.00i | 61.00m | 4.67g | 793.2300m |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>50 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 20.66gh | 15.00l | 3.30j | 15.83h | 63.01l | 4.72g | 945.1000l |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>100 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 25.00ef | 19.66g | 6.66f | 16.83fg | 88.73j | 5.95f | 1243.8340j |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>150 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 23.66fg | 18.66h | 5.60h | 16.00h | 66.46k | 4.80g | 1194.3337k |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>50 $mg.L^{-1}$ Thiamine | 28.66de | 16.00k | 6.00g | 16.66g | 99.50h | 6.85e | 1744.8100h |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>100 $mg.L^{-1}$ Thiamine | 29.66d | 17.66i | 6.66f | 16.66g | 111.2e | 6.90e | 1963.9333g |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>150 $mg.L^{-1}$ Thiamine | 30.33cd | 16.66j | 5.33i | 16.16h | 93.01i | 6.71e | 1549.8400i |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1% of probability level according to Duncan's multiple rang test.

ادامه جدول ۵- اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های زایشی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Table 5- The effect of vitamin application on productive charactristics of tomato plant cv. 'Delphus'

| تیمارها<br>Treatments | تعداد گل<br>Flower number | تعداد میوه<br>Fruit number | تعداد خوشه<br>Pedicle number | قطر میوه<br>Fruit diameter (cm) | وزن تر میوه<br>Fruit fresh weight (g) | وزن خشک میوه<br>Fruit dry weight (g) | عملکرد<br>Yield (g/tree) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۵۰ میلی‌گرم فولیک اسید<br>50 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 32.00bcd | 22.66d | 7.00d | 17.10f | 106.40f | 7.78d | 2412.3400e |
| ۱۰۰ میلی‌گرم فولیک اسید<br>100 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 32.66bcd | 22.00e | 9.00b | 18.83d | 113.56d | 7.83d | 2498.4400d |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>150 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 30.66cd | 20.22f | 7.33d | 18.50e | 101.73g | 7.67d | 2056.9933f |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>50 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +50 mg.L$^{-1}$ Thiamine+50 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 35.33b | 25.00b | 8.53c | 21.66b | 143.43b | 9.82b | 3586.2500b |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>100 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +100 mg.L$^{-1}$ Thiamine+100 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 45.33a | 36.00a | 9.77a | 22.44a | 158.00a | 10.81a | 5688.9667a |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>150 mg.L$^{-1}$ Pyridoxine +150 mg.L$^{-1}$ Thiamine+150 mg.L$^{-1}$ Folic acid | 34.66bc | 24.00c | 8.33c | 19.50c | 131.04c | 8.88c | 3144.6667c |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1% of probability level according to Duncan's multiple rang test.

این نتایج با گزارشات آل‌سعید و کمال (۷) در فلفل سبز و لی و همکاران (۳۵) در توت فرنگی مطابقت دارد. بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی با کاربرد برگی فولیک اسید توسط امام و همکاران (۲۱) و اسفندیاری و همکاران (۲۲) بیان شده است. فولیک اسید کوفاکتور مرکزی برای انتقال واکنش‌های تک کربنه درگیر در بسیاری از واکنش‌های سلولی از جمله سنتز پورین‌ها، نوکلئیک اسیدها، متابولیسم آمینواسیدها، تبدیل گلیسین به سرین، سنتز متیونین و تشکیل لیگنین، سنتز کلروفیل و هم‌چنین، در چرخه تنفس نوری منجر به افزایش رشد می‌شود (۳۳). امام و همکاران (۲۱) گزارش کردند که کاربرد برگی فولیک اسید سبب بهبود خواص آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل افزایش محتوای داخلی گلوتاتیون، اسید آسکوربیک و فنول کل شد. استاخوا و همکاران (۵۵) گزارش کردند که افزایش محتوای فولیک اسید در برگ‌ها سبب افزایش تولید آمینواسیدها شده و بنابراین، کیفیت نخودفرنگی‌ها را افزایش داده است. هم‌چنین، ابراهیم و همکاران (۳۲) گزارش نمودند که اسید فولیک به‌طور معنی‌داری سبب افزایش کلروفیل کل و مواد جامد محلول در سیب زمینی در مقایسه با شاهد شدند. بعلاوه، برجریس و همکاران (۱۶) دریافتند که اسید فولیک در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سبب افزایش مواد جامد محلول در نخودفرنگی شد.

## اثرات متقابل پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه گوجه فرنگی

نتایج مقایسه میانگین نشان دادند که تمامی غلظت‌های به کار برده شده پیرودکسین، تیامین و اسید فولیک سبب افزایش پارامترهای بیوشیمیایی نسبت به شاهد شدند. بیشترین میزان pH (۴/۷۸)، اسیدیته (۰/۲۸ درصد)، مواد جامد محلول (۳/۹۳ درصد)، لیکوپن (۲/۶۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، محتوای فنول کل (۶۶/۶۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر)، ویتامین ث (۱۳/۳۶ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم وزن تر)، کلروفیل a (۱/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کلروفیل b (۰/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کارتنوئید (۳/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر)، با کاربرد ترکیب ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین، ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولیک به‌دست آمد. این نتایج با گزارشات ال-قامرینی (۲۰) که بیان کردند محلول‌پاشی ویتامین‌های B (B1، B6 و B12) در گیاه لوبیا چشم بلبلی سبب افزایش کلروفیل برگ نسبت به شاهد شد و عبدل-حلیم (۳) که گزارش کرد کاربرد برگی برخی از ویتامین‌ها سبب بهبود رشد، افزایش کلروفیل برگ، ترکیبات شیمیایی و هورمون‌های داخلی گوجه فرنگی شد، مطابقت دارد.

جدول ٦- تجزیه واریانس اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های شیمیایی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Table 6- ANOVA for the effect of vitamin application on chemical characteristics of tomato plant cv.'Delphus'

| منابع تغییر S.O.V | | میانگین مربعات Mean square | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PH | اسید کل Total acid | مواد جامد محلول Soluble solid | لیکوپن Lycopene | فنول کل Total phenol | ویتامین ث Vitamin C | کلروفیل a Chlorophyll a | کلروفیل b Cholorophyll b | کارتنوئید Carotenoids |
| تکرار Replication | 2 | 0.001[ns] | 0.001[ns] | 0.035[ns] | 0.154** | 4.84ns | 3.31** | 0.046* | 0.090* | 1.530** |
| تیمار Treatment | 12 | 0.046** | 0.030* | 0.625* | 1.299** | 63.509** | 20.33** | 0.931** | 0.128** | 1.460** |
| خطا Error | 24 | 0.010 | 0.011 | 0.241 | 0.012 | 1.707 | 0.028 | 0.013 | 0.019 | 0.077 |

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

** Significant at level of 1%, * Significant at level of 5% and ns non-significant.

جدول ۷- اثر کاربرد ویتامین ها بر ویژگی‌های شیمیایی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

**Table 7- The effect of vitamin application on chemical charactristics of tomato plant cv. 'Delphus'**

| تیمارها<br>Treatments | pH | اسید کل<br>Total acidity (%) | مواد جامد محلول<br>Soluble solid (%) | لیکوپن<br>Lycopene (mg.100g $FW^{-1}$) | فنول کل<br>Total phenol (mg.100g $FWt^{-1}$) | ویتامین ث<br>Vitamin C (mg. 100 ml Fruit $juice^{-1}$) | کلروفیل a<br>Chlorophyll a (mg.g $FW^{-1}$) | کلروفیل b<br>Cholorophyll b (mg.g $FW^{-1}$) | کارتنوئید<br>*Carotenoids* (mg.g $wt^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد<br>Control | 4.29c | 0.60b | 2.40b | 0.53i | 52.33j | 5.3i | 0.30h | 0.30e | 1.11f |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>50 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 4.48bc | 0.39ab | 2.50b | 1.03gh | 55.00hij | 5.4i | 0.58g | 0.36de | 1.42f |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>100 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 4.60ab | 0.31ab | 2.76ab | 0.92h | 56.66ghi | 6.4h | 0.76fg | 0.40cd | 1.65ef |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین<br>150 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine | 4.54ab | 0.16ab | 2.85ab | 0.91h | 54.00ij | 6.6h | 0.82fg | 0.41cde | 2.23de |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>50 $mg.L^{-1}$ Thiamine | 4.64ab | 0.36ab | 2.86ab | 1.50ef | 59.00ef | 7.3g | 0.92f | 0.48bcde | 2.40cd |
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>100 $mgL^{-1}$ Thiamine | 4.65ab | 0.19ab | 2.87ab | 1.27fg | 60.00def | 7.6g | 1.00ef | 0.54bcde | 2.53bcd |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین<br>150 $mg.L^{-1}$ Thiamine | 4.63ab | 0.23ab | 2.90ab | 1.20g | 57.66fgh | 8.4f | 1.21de | 0.62abcde | 2.66abcd |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید<br>50 $mg.L^{-1}$ Folic acid | 4.67ab | 0.24ab | 2.90ab | 2.00bc | 62.33cd | 9.4e | 1.45cd | 0.68abcd | 2.76abcd |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1% of probability level according to Duncan's multiple rang test.

ادامه جدول ۷- اثر کاربرد ویتامین ها بر ویژگی‌های شیمیایی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Continue Table 7- The effect of vitamin application on chemical characteristics of tomato plant cv.'Delphus'

| تیمارها Treatments | pH | اسید کل Total acid (%) | مواد جامد محلول Soluble (%) solid | لیکوپن Lycopene (mg.100g $FW^{-1}$) | فنول کل Total phenol (mg.100g $FWt^{-1}$) | ویتامین ث Vitamin C (mg. 100 ml Fruit $juice^{-1}$) | کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g $FW^{-1}$) | کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g $FW^{-1}$) | کارتنوئید Carotenoids (mg.g $FW^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید 100 $mg.L^{-1}$ Folic acid | 4.69ab | 0.23ab | 2.95ab | 1.90cd | 63.33bcd | 9.6e | 1.55bc | 0.73abc | 2.86abcd |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید 150 $mg.L^{-1}$ Folic acid | 4.67ab | 0.12ab | 3.20ab | 1.71de | 61.33de | 10.50d | 1.73ab | 0.78ab | 2.96abc |
| ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید 50 $mg.L^{-1}$ Pyridoxine +50 $mg.L^{-1}$ Thiamine+50 $mg.L^{-1}$ Folic acid | 4.71ab | 0.44a | 3.85a | 2.50a | 65.66ab | 12.40b | 1.95a | 0.82ab | 3.20ab |

*وجود حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار ارقام در سطح احتمال ۱ درصد در هر ستون بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly at 1%  probability level according to Duncans multiple rang test.

ادامه جدول ۷- اثر کاربرد ویتامین‌ها بر ویژگی‌های شیمیایی گیاه گوجه فرنگی رقم 'دلفوس'

Table 7- The effect of vitamin application on chemical characteristics of tomato plant cv.'Delphus'

| تیمارها Treatments | pH | اسید کل Total acid (%) | مواد جامد محلول Soluble (%) solid | لیکوپن Lycopene (mg.100g $FW^{-1}$) | فنول کل Total phenol (mg.100g $FWt^{-1}$) | ویتامین ث Vitamin C (mg. 100 ml Fruit $juice^{-1}$) | کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g $FW^{-1}$) | کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g $FW^{-1}$) | کارتنوئید Carotenoids (mg.g $FW^{-1}$) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید 100 $mgL^{-1}$ Pyridoxine +100 $mgL^{-1}$ Thiamine+100 mgL-1 Folic acid | 4.78a | 0.28ab | 3.93a | 2.64a | 66.66a | 13.36a | 1.98a | 0.95a | 3.33a |
| ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+ ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید 150 $mgL^{-1}$ Pyridoxine +150 $mgL^{-1}$ Thiamine+150 mgL-1 Folic acid | 4.69ab | 0.19ab | 3.36ab | 2.20b | 64.66abc | 11.36c | 1.88a | 0.82ab | 3.06abc |

*وجود حروف مشترک در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر طبق آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

*Means followed by the same letters in each column are not significantly different at 1%  of probability level according to Duncan's multiple rang test.

شابالی و ال-رامادی (۵۳) گزارش نمودند که کاربرد برگی ویتامین‌ها ممکن است نقش مهمی در بسیاری از فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی داشته باشند که از جمله می‌توانند در فرآیند متابولسیم فتوسنتز موثر بوده و منجر به افزایش مواد جامد محلول و مواد معدنی شوند. هم‌چنین، آن‌ها دریافتند که محلول‌پاشی ویتامین‌ها سبب افزایش سطوح نیتروژن، فسفر، کلسیم و روی در میوه‌های گوجه فرنگی شد.

## نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان دادند که کاربرد ویتامین‌های پیرودکسین، تیامین و فولیک اسید به‌تنهایی یا ترکیب با یکدیگر سبب بهبود ویژگی‌های رشدی، زایشی و بیوشیمیایی گوجه فرنگی گلخانه‌ای رقم دلفی شدند. بیشترین میزان رشد، عملکرد و خصوصیات بیوشیمیایی در ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پیرودکسین+۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تیامین+۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر فولیک اسید به‌دست آمد.

## منابع


1- Abd EI- Hakim W.M. 2006. Effect of some antioxidant treatments on chemical constituents, antinutritional factors and yield of some vegetable legumes. Ph.D. Thesis, Fac. of Agric., Minia Middle East Journal of Agricultural Research 6(3): 662-672.

2- Abd El-Aziz N.G., El-Quesni F.E.M., and Farahat M.M. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of *Syngonium podophyllum* L. to foliar application of thiamine, ascorbic acid and kinetin at Nubaria. World Journal of Agricultural Sciences 3(3): 301–305.

3- Abdel-Halim S.M. 1995. Effect of some vitamins as growth regulators on growth, yield and endogenous hormones of tomato plants during winter. Egyption Journal of Applied Science 10(12): 322-334.

4- Abdel-Monaim M.F. 2011. Role of riboflavin and thiamine in induced resistance against charcoal rot disease of soybean, African Journal of Biotechnology 10(53): 10842-10855.

5- Abo-Hinna M.A., and Merza T.K. 2012. Effect of organic manure, tuber weight and ascorbic acid spraying on some vegetative parameters and marketable yield of potato (*Solanum tuberosum* L.*)* grown in sandy soil. Kufa Journal for Agricultural Science (4): 15-29.

6- Afroz A., Chaudhry Z., Rashid U., Khan M.R., and Ali G.M. 2010. Enhanced regeneration in explants of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) with the treatment of coconut water. African Journal Biotechnology 9(24): 3634-3644.

7- Al-Said M.A., and Kamal A.M. 2008. Effect of foliar spray with folic acid and some amino acids on flowering, yield and quality of sweet pepper. Mansoura Journal of Agricultural Science 33(10): 7403-7412.

8- Aminifard M.H., Jorkesh A., Fallahi H-R., and Alipoor K. 2018. Foliar application of thiamine stimulates the growth, yield and biochemical compounds production of Coriander and Fenugreek. Journal of Horticultural Research 26(1): 77-85.

9- Amin M.A., and Ismail M.A. 2015. Effect of indole butyric, arginine, cyanocobalamine (B12), ascorbic acid and their interactions on growth, yield and some metabolic constituents of sunflower plants. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences 2(12): 154–162.

10- Andrew W.J., Youngkoo C., Chen X., and Pandalai S.G. 2000. Vicissitudes of a vitamin. Recent Res. Dev. Phytochem 4: 89-98.

11- Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

12- Arrigoni O., Calabrese G., De Gara L., Bitoni M., and Liso R. 1997. Correlation between changes in cell ascorbate and growth of *Lupinus albus* seedlings. Journal of Plant Physiology 150: 302-308.

13- Bahuguna R.N., Joshi R., Shukla A., Pandey M., and Kumar J. 2012. Thiamine primed defense provides relia-ble alternative to systemic fungicide carbendazim against sheath blight disease in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Physiology and Biochemistry 57: 159–167.

14- Boghdady M.S. 2013. Efficiency of pyridoxine on the growth, yield, seed quality and anatomy of Egyption lupine (*Lupinus termis* Forssk.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences 7(1): 448-456.

15- Boubakri H., Wahab M.A., Chong J., Bertsch C., Mliki A., and Soustre-Gacougnolle I. 2012. Thiamine induced resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine and elicited host–defense responses, including HR like-cell death. Plant Physiology and Biochemistry 57: 120–133.

16- Burguieres E., McCue P., Kwon Y., and Shetty K. 2007. Effect of vitamin C and folic acid on seed vigour response and phenolic-linked antioxidant activity. Bioresearch Technology 98: 1393-1404.

17- Chen J., and Xiong L. 2005. Pyridoxine is required for post-embryonic root development and tolerance to osmotic and oxidative stresses. Plant Journal 44(3): 396-408.

18- Di Salvo M.L., Contestabile R., and Safo M.K. 2011. Vitamin B6 salvage enzyme: Mechanism, structure and regulation. Biochimica et Biophysica Acta1814: 1597-1608.
19- Dhonukshe-Rutten R.A.M., De Vries J.H.M., Bree A., De van der Put N., Van Staveren W.A., and De Groot L.C. 2007. Dietary intake and status of folate and vitamin B12 and their association with homocysteine and cardiovascular disease in European populations. European Food Research and Technology 63(1): 18–30.
20- El-Ghamriny E.A., Arisha H.M., and Kamel A.E. 2005. Effect of foliar spray with B-vitamins (B1, B6 and B12) on growth and seed yield of cowpea plants. Zagazig Journal of Agricultural Research 32(6): 1767-1783.
21- Emam M.M., El-Sweify A.H., and Helal N.M. 2011. Efficiencies of some vitamins in improving yield and quality of flax plant. African Journal of Agricultural Research 6(18): 4362-4369.
22- Esfandiari E., Enayati W., Sabaghniam N., and Janmohammadi M. 2012. Effects of folic acid on seed germination properties and seedling growth. Albanian Journal of Agricultural Sciences 3(11): 185-193.
23- Fallahi H.R., Aminifard M.H., and Jorkesh A. 2018. Effects of thiamine spraying on biochemical and morphological traits of basil plants under greenhouse conditions. Journal of Horticulture and Postharvest Research 1(1): 27–36.
24- FAO (2019). FAOSTAT, agricultural database. http:// apps. Fao. Org.
25- Farouk S., Youssef S.A., and Ali A.A. 2012. Exploitation of biostimulants and vitamins as an alternative strat-egy to control early blight of tomato plants. Asian Journal of Plant Sciences 11(1): 36–43.
26- Ghorbani D.A., Mashayekhi K., and Kamar B. 2015. Effect of foliar application sucrose, boron, potassium nitrate and salicylic acid on yield and yield components of tomato var. Super A. Research in Crop Ecosystems 2(1): 43-52.
27- Haghighi M., and Mozafarian M. 2015. Application of amino acid on growth and yield of greenhouse tomato and pepper. Journal of Vegetable Science 1: 59-64. (In Persian)
28- Hamada A.M., and Khulaef E.M. 2000. Simulative effects of ascorbic acid, thiamin or pyridoxine on *Vicia faba* growth and some related metabolic activities. Pakistan Journal of Biological Sciences 3(8): 1330–1332.
29- Hannan M.M., Ahmed M.B., Razvy M.A., Karim R., Khatun M., Haydar A., Hossain M., and Roy U.K. 2007. Heterosis and correlation of yield and yield components in tomato (*Lycopersicon esulentum* Mill.). Amer-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 2(2): 146-150.
30- Helal F.A., Farag S.T., and El-Sayed S.A. 2005. Studies on growth, yield and its components and chemical composition under effect of vitamin C, vitamin B1, boric acid and sulphur on pea (*Pisum sativum* L.) plants. Mansoura University Journal of agricultural Science 30(6): 3343-3353.
31- Hendawy S.F., and Ezz El-Din A.A. 2010. Growth and yield of *Foeniculum vulgare* var. azoricum as influenced by some vitamins and amino acids. Ozean Journal of Applied Science 3(1): 113-123.
32- Ibrahim M.F.M., Abd El-Gawad H.G., and Bondok A.M. 2015. Physiological impacts of potassium Middle East Journal of Agricultural Research 6(3): 662-672.
33- Jabrin S.S., Ravanel Gambonnet B., Douce R., and Rebeille F. 2003. One-Carbon Metabolism in Plants. Regulation of Tetrahydrofolate Synthesis during Germination and Seedling Development. Plant Physiology 131: 1431-1439.
34- Khan M., Khan N.A., and Saminllah M.M. 2001. Response of mustard and wheat to pre-sowing seed treatment with pyridoxine and basal level of calcium. Indian Journal of Plant Physiology 6(3): 300-305.
35- Li D., Li L., Luo Z., Mou W., Mao L., and Ying T. 2015. Comparative transcriptome analysis reveals the influence of abscisic acid on the metabolism of pigments, ascorbic acid and folic acid during strawberry fruit ripening. PLos One 10(6): 1-15.
36- Lone N.A., Khan N.A., Hayat S., Azam Z.M., and Samiullah M.M. 1999. Evaluation of effect some B-vitamins on root development of mustard. Annals of Applied Biology 134: 30-37.
37- Mady M.A. 2009. Effect of foliar application with salicylic acid and vitamin E on growth and productiv-ity of tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) plant. Journal of Agricultural Sciences, Mansoura University 34(6): 6735–6746.
38- Mahmoud M.M. 2014. Response of soybean plants to exogenously apply with ascorbic acid, zinc sulphate and paclobutrazol. Report and Opinion 6(11): 17-25.
39- Martinis J., Gas-Pascual E., Szydlowski N., Crèvecoeur M., Gisler A., Bürkle L., and Fitzpatrick T.B. 2016. Long-distance transport of thiamine (vitamin B1) is concomitant with that of polyamines. Plant Physiology 171: 542–553.
40- Mazumdar B.C. 2003. Methodes on Physico-Chemical Analysis of Fruit. Daya Publishing House, Delhi.
41- Mostofi Y., and Najafi F. 2006. Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture. 1st Edition. Tehran University Press, 136 pp.
42- Munne-Bosch S., and Alegre L. 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. Critical Reviwes in Plant Sciences 21: 31-57.
43- Nassar R.M.A., Arafa S., and Farouk S. 2017. Effect of foliar spray with pyridoxine on growth, anatomy, photosynthetic pigments, yield characters and biochemical constituents of seed oil of sesame plant (*Sesamum*

*indicum* L.). Middle East Journal of Applied Sciences 7(1): 80-91.

44- Navarro R.M., Retamosa M.J., Lopez J., Campo A.D., Ceaceros C., and Salmoral L. 2006. Nursery practices and field performance for the endangered Mediterranean species *Abies pinsapo* Boiss. Ecological Engineering 27(2): 93-99.

45- Poudineh Z., Moghadam Z.G., and Mirshekari S. 2015. Effects of humic acid and folic acid on sunflower under drought stress. Biological Forum – An International Journal 7(1): 451-454.

46- Rapala-Kozik M., Wolak N., Kujda M., Banas A.K. 2012. The upregulation of thiamine (vitamin B1) biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* seedlings under salt and osmotic stress conditions is mediated by abscisic acid at the early stages of this stress response. Plant Biology 12(2): 14 p.

47- Raschke M., Burkle L., Muller N., Nunes-Nesi A., Fernie A.R., and Arigoni D. 2007. Vitamin B1 biosynthesis in plant requires the essential iron-sulfur cluster protein, THIC. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104: 19637-19642.

48- Reda F., Abdel-Rahim E.A., El-Baroty G.S.A., and Ayad H.S. 2005. Response of essential oils, phenolic components and polyphenol oxidase activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) to some bioregula-tors and vitamins. International Journal of Agriculture and Biology 7(5): 735-739.

49- Ristila M., Strid H., Eriksson L.A., Strid A., and Savenstrand H. 2011. The role of the pyridoxine (Vitamin B6) biosynthesis enzyme PDXL in ultraviolet-B radiation responses in plants. Plant Physiology and Biochemistry 49: 284-292.

50- Sadasivam S., and Manickam A. 1992. Biochemical methods for agricultural sciences. Wiley Eastern Limited, New Dehli.

51- Sayed S.A., and Gadallah M.A.A. 2002. Effects of shoot and root application of thiamin on salt-stressed sunflower plants. Plant Growth Regulation 36(1): 71-80.

52- Shabana A., Hoda A., Shafeek M.R., and Abd El-Al F.S. 2015. Improving productivity of tomato crop grown under high temperature condition using some safe and natural substances. Middle East Journal of Agricultural Research 4(1): 20-26.

53- Shalaby T.A., and El-Ramady H. 2014. Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield, yield components and storability of garlic (*Allium sativum* L.). Australian Journal of Crop Science 8(2): 271-275.

54- Singleton V.L., and Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphormolybdic- phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16: 144-158.

55- Stakhova L.N., Stakhov L.F., and Ladygin V.G. 2000. Effects of exogenous folic acid on the yield and amino acid content of the seed of *Pisum sativum* L. and *Hordeum vulgare* L. Applied Microbiology and Biotechnology 36(1): 98-103.

56- Sweeney J.P., Chapman V.J., and Hepner P.A. 1970. Sugar, acids, and flavor in fresh fruit. Journal of the American Dietetic Association 57: 432-435.

57- Tunc-Ozdemir M., Miller G., Song L., Kim J., Sodek A., and Koussevitzky S. 2009. Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. Plant Physiology 151: 421-432.

58- Youssif S.B.D. 2017. Response of potatoes to foliar spray with cobalamin, folic acid and ascorbic acid under North Sinai conditions. Middle East Journal of Agriculture Research 6(3): 662-672.

59- Wang F., Kang S., Du T., Li F., and Qiu R. 2011. Determination of comprehensive quality index for tomato and its response to different irrigation treatments. Agricultural Water Management 98(8): 1228-1238.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 283-300
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۰۰-۲۸۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Effects of Pyridoxine, Thiamine and Folic acid on Growth, Reproductive and Biochemical Characteristics of Delphus Tomato

**M. Zamanipour[1]***
Received: 29-09-2020
Accepted: 24-02-2021

**Introduction**: Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a perennial plant, which is rich in antioxidant compounds, lycopene, polyphenols and vitamin C. Iran, with production of 5.24 million tons, is ranked sixth in the world in tomato production. According to the latest FAO reports in 2019, the total area under tomato cultivation was 121203 hectares, with an average yield of 43.30 tons per hectare, and annual production of 5248904 tons. Vitamins are made from natural ingredients and are suitable for the growth, function and improvement of plant nutrition. The aim of this study was to investigate the effects of different levels of pyridoxine (50, 100 and 150 $mgL^{-1}$), thiamine (50, 100 and 150 $mgL^{-1}$) and folic acid (50, 100 and 150 $mgL^{-1}$) and the combination of these vitamins on the plant growth, yield and chemical properties of tomatoes.

**Materials and Methods**: This study was conducted as randomized complete block design with three replications in the greenhouse of Iranshahr University during the years 2019 to 2020. The tomato cultivar was Delphus, the seedling of which was purchased from Pakan Bazr Isfahan Company. In August, with the beginning of the tomato planting period in the greenhouse, seedlings were planted and the harvest lasted until December. Seedlings were planted in rows of 75 cm wide and 40 cm apart. Irrigation was performed in the greenhouse with a drip system. The first irrigation was carried out immediately after planting and the second and third irrigations were carried out one day later for one hour and the subsequent irrigations were carried out in proportion to the growth of seedlings, every other day, every four days. At the 7-8 leaf stage, the plants were guided vertically on the thread. The greenhouse temperature was 25 to 32 °C during the experiment and 18 to 24 °C at night and the relative humidity was about 50%.

**Results and Discussion:** The results showed that all used concentrations of pyridoxine, thiamine and folic acid increased the growth parameters compared to the control, so that the highest plant height (271 cm), stem diameter (7 cm), number of leaves (31) fresh weight (502 g) and dry weight (341.66 g) were produced at a concentration of 100 $mgL^{-1}$ pyridoxine + 100 $mgL^{-1}$ thiamine + 100 $mgL^{-1}$ folic acid. Interaction of B vitamin levels at low, medium and high levels had a significant effect on the reproductive parameters of tomato plants, so that the highest number of flowers (41.33), number of fruits (29.55), number of clusters (9.77), fruit diameter (22.44 mm), fruit fresh weight (158 g) and fruit dry weight (10.81 g) and yield (5688.9667 g/plant) at a concentration of 100 $mgL^{-1}$ pyridoxine, 100 $mgL^{-1}$ thiamine and 100 $mgL^{-1}$ was observed per liter of folic acid. Increasing of yield can be due to increased nutrient uptake and assimilation, and increased growth due to the presence of vitamins. Similar results by El-Gharmany *et al*. (2005) stated that foliar application of vitamins (B1, B6 and B12) in appropriate concentrations in cowpea significantly increased the number of pods per plant and total yield compared to the control. Shabaly and El-Ramady (2014) and Shabana *et al*. (2015) found that some natural ingredients have increased yield of garlic and tomatoes. Also, all concentrations of pyridoxine, thiamine and folic acid used increased biochemical parameters compared to the control. Maximum pH (4.78), acidity (0.28%), soluble solids (3.93%), lycopene (2.64 mg/100 g fresh weight), total phenol content (66.66 mg/100 g fresh weight, vitamin C (13.36 mg/100 g fresh weight), chlorophyll a (1.98 mg/g fresh weight), chlorophyll b (0.98 mg /g fresh weight) and carotenoids (3.33 mg/g fresh weight) were obtained by using a combination of 100 $mgL^{-1}$ pyridoxine, 100 $mgL^{-1}$ thiamine and 100 $mgL^{-1}$ folic acid. Foliar application of vitamin treatments may play an important role in physiological and metabolic processes that affect the process of photosynthetic metabolism and lead to an increase in soluble solids and minerals. The interaction of vitamins improves the action of biochemicals on amino acid metabolism and nucleic acid synthesis. However, Abdel-Halim (1995) reported that foliar application of some vitamins improved leaf growth, increased chlorophyll, chemicals, and internal hormones in tomatoes during the winter. El-Ghamriny (2005) reported that foliar application of B vitamins (B1, B6 and B12) increased leaf chlorophyll in cowpea compared to the control, and Burguieres et al. (2007) found that folic acid at a concentration of 50 $mgL^{-1}$ increased minerals in peas. Hendawy and Ezz El-Dinn (2010) reported that vitamin B

1- Assistant Professor, Department of Agriculture, Faculty of Technical and Engineering, Velayat University, Iranshahr, Iran
(*- Corresponding Author Email: m.zamanipour@velayat.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhs.2021.61961.0

complex as a coenzyme in enzymatic reactions such as carbohydrates, fatty acids and proteins involved in photosynthesis and respiration. In addition, Abd El-Hakim (2006) reported that some antioxidants improve biochemical properties in some beans.

**Conclusion:** The results showed that the use of pyridoxine, thiamine and folic acid vitamins alone or in combination with each other improved the growth, reproductive and biochemical characteristics of Delphi greenhouse tomatoes. The highest growth rate, yield and biochemical properties were obtained at 100 $mgL^{-1}$ pyridoxine + 100 $mgL^{-1}$ thiamine + 100 $mgL^{-1}$ folic acid.

**Keywords**: Growth, Nutrition, Tomato, Yield, Vitamins

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 301-311
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۱-۳۰۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

**مقاله پژوهشی**

# مطالعه تأثیر رقم و حذف غنچه بر تکثیر پیاز لیلیوم

**سجاد حیدری[1]*- سعید ریزی[2]- سید نجم الدین مرتضوی[3]- علی نیک‌بخت[4]**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۹

## چکیده

لیلیوم یکی از زیباترین و مشهورترین گیاهان زینتی پیازی است که به خانواده سوسنی‌ها تعلق دارد. به‌منظور بررسی تأثیر رقم و حذف غنچه بر تکثیر پیاز لیلیوم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو رقم ('Tiber' و 'Donato')، سه سطح حذف غنچه (عدم حذف، حذف در مرحله رؤیت غنچه و حذف در مرحله سه سانتی‌متری طول غنچه) در سه تکرار طراحی شد. نتایج نشان داد که رقم و حذف غنچه تمام صفات مورد ارزیابی (به جز قطر ساقه) را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. همچنین، برهمکنش دو تیمار تأثیر معنی‌داری بر وزن پیاز، تعداد پیازچه، ضریب تکثیر، اندازه پیاز و اندازه فلس داشت. در رقم 'Tiber' بیش‌ترین وزن پیاز، اندازه پیاز و اندازه فلس با حذف غنچه در مرحله رؤیت حاصل شد که نسبت به تیمار عدم حذف همین رقم به‌ترتیب ۹۳/۵، ۲۴/۰ و ۵۳/۹ درصد افزایش نشان داد. علاوه‌براین، در رقم 'Donato'، حذف غنچه در مرحله رؤیت غنچه صفات وزن پیاز، اندازه پیاز و اندازه فلس را به‌طور معنی‌داری (به‌ترتیب ۸۹/۴، ۲۲/۸ و ۳۱/۵ درصد) نسبت به عدم حذف غنچه افزایش داد. علاوه‌براین، بیش‌ترین تعداد پیازچه و ضریب تکثیر در رقم 'Donato' با اعمال تیمار حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری حاصل شد که نسبت به تیمار عدم حذف غنچه در همین رقم، به‌ترتیب ۵۸/۳ و ۷/۰ درصد افزایش نشان داد. به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که رقم 'Donato' در اغلب صفات مورد ارزیابی برتری محسوسی نسبت به رقم 'Tiber' دارد و حذف غنچه در مرحله رؤیت به شرط عدم آسیب به انتهای شاخه، مناسب‌ترین تیمار جهت کشت مجدد، تولید و تکثیر پیاز لیلیوم می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پیازچه، تولید، سوسن، فلس، واریته

## مقدمه

لیلیوم (*Lilium* spp.) یکی از زیباترین و مشهورترین گیاهان زینتی پیازی است که به خانواده سوسنی‌ها[5] تعلق دارد. لیلیوم‌ها یکی از شش جنس مهم دنیا در زمینه گل‌های پیازی می‌باشند (۱۳) که پس از رز، میخک و داوودی رتبه چهارم گیاهان معروف دنیا را به خود اختصاص داده است (۱۶) و از نظر تولید نیز رتبه دوم تولید جهانی را دارا می‌باشد (۲۲). اهمیت این جنس در بازار جهانی گل عمدتّا به دلیل تنوع گونه‌ها و تعداد زیاد هیبریدها و رقم‌های تجاری با طرح‌ها و رنگ‌های مختلف آن می‌باشد. بازارهای عمده این گیاه عمدتّا شامل گل شاخه‌بریده، گیاه گلدانی، باغی یا محوطه‌سازی می‌باشد (۱۳). جنس لیلیوم شامل بیش از ۱۰۰ گونه است که عمدتا در نیمکره شمالی توزیع شده‌اند (۸). این گونه‌ها از نظر طبقه بندی به هفت بخش مارتاگون[6]، سودولیریوم[7]، لیلیوم[8]، آرکلیریون[9]، سینومارتاگون[10]، لئوکولیریون[11] و اوکسی‌پتالا[12] تقسیم می‌شوند (۸ و ۱۸). گروه‌بندی لیلیوم‌ها بر اساس فیلوژنی ژنتیکی نیز انجام شده است. اصلی‌ترین گروه‌ها از نظر گل شاخه‌بریده شامل هیبریدهای آسیایی[13]، اورینتال[14]،

۱ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: heidari.sajad@znu.ac.ir)
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران
۴- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
DOI: 10.22067/jhs.2021.67093.0

5- Liliaceae
6- Martagon
7- Pseudolirium
8- Lilium
9- Archelirion
10- Sinomartagon
11- Leucolirion
12- Oxypetalum
13- Asiatic
14- Oriental

لانگیفلوروم[1]، LA[2]، OT[3]، LO[4] و OA[5] می‌باشند (۱۸). رقم 'Tiber' از گروه هیبریدهای اورینتال لیلیوم بوده که دارای گل‌های صورتی است و خال‌های وسط گلبرگ‌های آن زیبایی خاصی به آن می‌دهد به‌نحوی که یکی از پر طرفدارترین ارقام اورینتال در بازار ایران است. پیازهای ۲۲-۲۰ سانتی‌متری 'Tiber' بین ۸-۵ عدد غنچه تولید می‌کنند. دوره رشد آن به‌طور متوسط ۱۰۰-۱۱۰ روز بوده و ارتفاع شاخه نیز به ۱۱۰-۱۰۰ سانتی‌متر می‌رسد. از طرف دیگر رقم 'Donato'، از گروه هیبریدهای OT با گلبرگ‌های صورتی، بلندقد (۱۴۰-۱۳۰ سانتی‌متر) با دوره رشد ۱۱۰-۱۰۰ روز بوده و طرفداران زیادی در بازار گل لیلیوم دارد. پیازهای سایز ۲۲-۲۰ سانتی‌متری 'Donato'بین ۷-۵ عدد غنچه تولید می‌کنند (۱۷ و ۱۹). در هر دوی این ارقام، پیازها پس از برداشت گل تحلیل می‌روند و امکان تولید شاخه گل با کیفیت، با کشت مجدد بلافاصله پس از رفع خواب وجود ندارد.

پیشنهاد شده است که حذف زودهنگام غنچه‌های لیلیوم، می‌بایست عملکرد پیاز لیلیوم را افزایش دهد (۱، ۲ و ۲۱). حذف غنچه فرآیند توسعه پیاز را از طریق تأثیر آن بر انباشت و انتقال کربوهیدرات در پیازهای لیلیوم، بهبود می‌بخشد (۱۴ و ۲۳). مقدار ماده خشک تولید شده توسط برگ‌ها و دردسترس بودن فلس‌های پیاز جهت تولید پیازهای بزرگ اهمیت دارد. در طول دوره رشد، گل‌ها و ساقه گل‌ها مقدار قابل توجهی از ماده خشک را مصرف می‌کنند، در غیر این صورت ممکن است این مواد برای توسعه پیاز دردسترس باشد. از طرف دیگر، گل آذین لیلیوم با چهار گل بیش از ۸ گرم ماده خشک در طول دوره رشد خود مصرف می‌کند و تأخیر در قطع جوانه‌ها به مدت دو تا سه هفته، تأثیر بر ساختار گیاه را به حداقل می‌رساند و به پیاز اجازه می‌دهد مقدار قابل توجهی ماده خشک اضافی ذخیره نماید. با توجه به حداکثر بودن مصرف موادغذایی به‌واسطه توسعه شاخه گل لیلیوم عید پاک در نزدیکی گلدهی، با رسیدن گل آذین به زمان شکوفایی ممکن است اثر حذف غنچه کاهش یابد (۲۰). در چندین مطالعه تأثیر حذف غنچه بر ویژگی های رویشی و تکثیر پیاز لیلیوم از جمله طول ساقه گل، سطح برگ، اندازه و وزن پیاز، تعداد و اندازه پیازچه، تعداد و اندازه فلس گزارش شده است (۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۱). در گل لاله (*Tulipa gesneriana* L.)، حذف غنچه و گل تأثیر معنی‌داری بر تعداد پیاز اصلی در گیاه نداشت. بااین‌حال، حذف غنچه (زمانی که ۱/۵ تا ۳ سانتی‌متر طول داشت) یا گل همراه با یک یا دو عدد از بالاترین برگ‌ها باعث کاهش عملکرد پیاز شده و حذف غنچه هیچ تأثیر زیان‌آوری ندارد (۷).

با توجه به اهمیت تولید پیاز لیلیوم در داخل کشور و عدم انجام پژوهش حاضر بر روی هیبریدهای جدید لیلیوم از جمله هیبریدهای متنوع و بازار پسند اورینتال و OT، این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر رقم و حذف غنچه بر ویژگی‌های رویشی گل لیلیوم و تأثیر آن بر تولید و تکثیر آن انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی، بستر کشت و شرایط آزمایش

این پژوهش در گلخانه‌ای هیدروپونیک در شهرستان دهاقان، استان اصفهان در منطقه‌ای با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶۱ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۹۶ دقیقه شمالی و ارتفاع از سطح دریا ۲۰۰۴ متر انجام شد. دما، رطوبت و شدت نور داخل گلخانه در طول شبانه‌روز دوره رشد به ترتیب ۱۵ تا ۲۵ درجه سلسیوس، ۵۰ تا ۷۰ درصد و ۲۰ تا ۳۰ کیلولوکس بود. فاکتورهای این پژوهش شامل پیاز دو رقم لیلیوم 'Tiber' و 'Donato'(شکل ۱ و ۲) و حذف غنچه در سه سطح (D0= عدم حذف، D1= حذف در مرحله رؤیت غنچه، D2= حذف در مرحله سه سانتی‌متری طول غنچه) بود (شکل ۳) که بر اساس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۱۰ گیاه در هر تکرار انجام شد. برای اعمال تیمارها، پیازها ۳۰ تا ۶۰ روز پس از برداشت گل از بستر کشت خارج شده و پس از پاک شدن و توزین، پیازهای با وزن یکسان (۶۰-۵۰ گرم) انتخاب و پس از ضدعفونی با مخلوط قارچکش (۱ گرم در لیتر رورال تی اس ۵۲/۵ درصد و ۰/۵ گرم در لیتر اکسی کلرور مس ۳۵ درصد)، در کیسه‌های پلاستیکی به‌همراه پیت ماس مرطوب قرار گرفته و جهت اعمال تیمار سرمادهی به مدّت ۱۲ هفته در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند (۱۲ و ۱۴). رطوبت نسبی محل قرارگیری پیازها جهت اعمال دمای پایین در حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد حفظ شد. در پایان مدّت زمان نگهداری، تمام تیمارها همزمان از محل ذخیره خارج شده و به مدّت یک هفته در دمای محیط جهت آمادگی کاشت قرار گرفتند. قبل از پر کردن سبدها با بستر کشت (۸۰ درصد کوکوپیت و ۲۰ درصد پرلیت)، همگی با فرورفتن به‌مدت ۳۰ دقیقه در وان پلی اتیلن حاوی محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد، ضدعفونی شدند. تعداد ۱۰ عدد پیاز لیلیوم در سبدهای پلاستیکی مشکی رنگ به ابعاد (۲۱×۳۷×۵۶ سانتی‌متر) و در عمق ۱۲ سانتی‌متری کشت شده و هر سبد پلاستیکی به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. جهت تسریع ریشه‌دهی پیازها، سبدها پس از کاشت و آبیاری در اتاقی با دمای ۱۰ تا ۱۲ درجه سلسیوس و رطوبت بالای ۷۰ درصد قرار گرفتند. پس از خروج جوانه از سطح بستر رشد، سبدهای مربوط به هر رقم به‌طور تصادفی به یک بستر با دو ستون درون گلخانه منتقل شدند. برای

1- Longiflorum
2- Longiflorum×Asiatic
3- Oriental×Trumpet
4- Longiflorum×Oriental
5- Oriental×Asiatic

تغذیه بسترها از محلول غذایی بر اساس فرمول ارائه‌شده توسط هوگلند (۶) تهیه و pH آن توسط pHمتر و هدایت الکتریکی آن با استفاده از ECمتر اندازه‌گیری شد. با افزودن اسید نیتریک و اسید فسفریک pH محلول غذایی در محدوده ۵ تا ۶/۵ و هدایت الکتریکی نیز در محدوده ۲/۴ تا ۲/۸ دسی‌زیمنس بر متر حفظ گردید.

**شکل ۱- گل لیلیوم رقم‌های 'Tiber' (سمت راست) و 'Donato' (سمت چپ)**
**Figure 1- Lily flowers of 'Tiber' (right) and 'Donato' (left) cultivars**

**شکل ۲- پیازهای لیلیوم رقم 'Tiber' (سمت راست) و 'Donato' (سمت چپ)**
**Figure 2- Lily bulbs of 'Tiber' (right) and 'Donato' (left) cultivars**

عمل حذف غنچه‌ها در دو مرحله روی گیاهان مربوط انجام گرفت. اولین مرحله زمانی‌که اولین غنچه‌ها قابل رؤیت شدند و دیگری هنگامی که طول غنچه‌ها به اندازه سه سانتی‌متر رسید. در هر دو مرحله حذف غنچه، این عمل با خم کردن غنچه به یک سمت، بدون آسیب به نوک شاخه و برگ‌های زیر آن انجام شد (۱۵). دو هفته پس از ریزش گلبرگ‌های شاخه‌های گلی که غنچه‌های آن‌ها حذف نشده بود، پنج گیاه از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شده و با برداشت ساقه و پیاز، از نظر ویژگی‌های مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارتفاع ساقه در پایان دوره رشد از سطح بستر تا بالای گیاه با استفاده از متر نواری (با دقت یک میلی‌متر) اندازه‌گیری شد. قطر ساقه با استفاده از کولیس دیجیتال (با دقت یک صدم میلی‌متر) مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام برگ‌های سالم در پایان دوره رشد شمارش شد و سطح آن با استفاده از نرم‌افزار ایمیج‌جی[1]، تعیین شد. پیازهای موجود در هر سبد قبل از کاشت و پس از برداشت (دو هفته پس از گلدهی) با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت یک صدم گرم) وزن شدند. محیط پیاز به‌وسیله‌ی متر نواری (با دقت یک میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید. تعداد پیازچه‌های تولیدی از پیاز اصلی پس از برداشت، به عنوان تعداد پیازچه در نظر گرفته شد. تعداد فلس در هر گیاه شمارش شده و میانگین تعداد در هر پیاز به عنوان تعداد فلس ثبت شد. مساحت هر فلس پس از تصویربرداری از آن‌ها و با استفاده از نرم‌افزار ایمیج‌جی، تعیین شد. با تقسیم مجموع پیاز و پیازچه برداشت شده بر تعداد پیاز کشت شده مقدار ضریب تکثیر محاسبه گردید.

1- ImageJ

**شکل ۳- شاخه‌های گل رقم ’Tiber‘ (بالا) و ’Donato‘ (پایین) به‌ترتیب از سمت راست به چپ: مرحله رؤیت غنچه، مرحله سه سانتی‌متری طول غنچه، و پس از حذف غنچه**

**Figure 3- The cut flower of ‘Tiber’ (up) and ‘Donato’ (bottom) cultivars from right to the left: stage of bud appearance, stage of 3 cm bud length and after disbudding, respectively**

## آنالیز آماری داده‌ها

نرم‌افزار SAS (Statistical Analysis System, 2001) نسخه ۱۰/۱ برای آنالیز آماری داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد نیز برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ (Excell 2016) برای رسم نمودارها استفاده شد.

## نتایج

### تأثیر رقم بر صفات مورد ارزیابی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) اثر اصلی رقم بر تمام صفات مورد ارزیابی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. در رقم ’Donato‘صفات ارتفاع گیاه، قطر ساقه، سطح برگ، وزن پیاز، اندازه پیاز (شکل ۴)، اندازه فلس، تعداد پیازچه و ضریب تکثیر به‌ترتیب ۳۲/۹ درصد، ۶/۹ درصد، ۳۵/۳ درصد، ۴۰/۹ درصد، ۱۴/۲ درصد، ۷۰/۱ درصد، ۷۷/۹ درصد و ۸/۲ درصد بیش‌تر از رقم ’Tiber‘ بود درحالی‌که در رقم ’Tiber‘، تعداد برگ و تعداد فلس به‌ترتیب با ۱۲/۵ درصد و ۵۴/۹ درصد بیشتر از رقم ’Donato‘بود.

### تأثیر حذف غنچه بر صفات مورد ارزیابی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) اثر اصلی حذف غنچه بر تمام صفات مورد ارزیابی به جزء قطر ساقه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. بیش‌ترین ارتفاع گیاه (۹۷/۲۹ سانتی‌متر) و سطح برگ (۴۴/۱۰ سانتی‌متر مربع) در تیمار عدم حذف غنچه مشاهده شد. هرچند، کوتاه‌ترین ساقه (۸۷/۶۰ سانتی‌متر) با حذف غنچه در مرحله رؤیت و کوچک‌ترین برگ (۳۹/۹۷ سانتی‌متر مربع) با حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری مشاهده شد که به‌ترتیب ۱۰/۱ درصد و ۹/۴ درصد کم‌تر از تیمار عدم حذف غنچه بود. با حذف غنچه در مرحله رؤیت بیش‌ترین تعداد فلس (۳۳/۶۶)، سنگین‌ترین پیاز (۹۴/۹۱ گرم)، درشت‌ترین پیاز (۱۹/۶۶ سانتی متر، شکل ۴) و بیش‌ترین اندازه فلس (۵/۴۰ سانتی‌متر مربع) به‌ترتیب با افزایش ۱۱/۳ درصد، ۹۱/۲ درصد، ۲۳/۳ درصد و ۳۹/۲ درصد نسبت به عدم حذف غنچه اندازه‌گیری شد، در صورتی‌که کم‌ترین میزان صفات ذکر شده با عدم حذف غنچه ثبت گردید. با اعمال تیمارهای حذف غنچه تا سطح سوم، تعداد برگ، تعداد پیازچه و ضریب تکثیر به‌ترتیب ۲/۷ درصد، ۳۷/۰ درصد و ۳/۶ درصد نسبت به تیمار عدم حذف غنچه افزایش یافت هر چند، در این مورد بین تیمار حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری و حذف غنچه در مرحله رؤیت از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از طرف دیگر، کم‌ترین مقدار صفات مذکور در تیمار عدم حذف غنچه رخ داد.

جدول ۱- مقایسه میانگین و تجزیه واریانس تأثیر رقم و حذف غنچه بر ارتفاع گیاه، قطر ساقه، تعداد برگ، سطح برگ و تعداد فلس لیلیوم

**Table 1- Mean comparison and ANOVA for the effect of cultivar and disbudding on the lily plant height, stem diameter, leaf number, leaf area, and the number of scales**

| | ارتفاع گیاه<br>Plant height (cm) | قطر ساقه<br>Stem diameter (mm) | تعداد برگ<br>Leaf number | سطح برگ<br>Leaf area ($cm^2$) | تعداد فلس<br>Scale number |
|---|---|---|---|---|---|
| رقم<br>Cultivar | | | | | |
| ‘Tiber’ | 79.16b | 7.13b | 48.03a | 35.45b | 39.43a |
| ‘Donato’ | 105.16a | 7.62a | 42.69b | 47.96a | 25.45b |
| حذف غنچه<br>Disbudding | | | | | |
| D0 | 97.29a | 7.44a | 44.77b | 44.10a | 30.24b |
| D1 | 87.60c | 7.36a | 45.31ab | 41.05b | 33.66a |
| D2 | 91.60b | 7.30a | 45.99a | 39.97b | 33.43a |
| منابع تغییر<br>S.O.V | | | | | |
| رقم<br>Cultivar | ** | ** | ** | ** | ** |
| حذف غنچه<br>Disbudding | ** | ns | * | ** | ** |
| رقم × حذف غنچه<br>Cultivar × Disbudding | ns | ns | ns | ns | ns |
| خطا<br>Error | 13.5 | 0.09 | 5.16 | 9.0 | 5.0 |
| ضریب تغییرات<br>CV (%) | 3.99 | 4.17 | 5.01 | 7.19 | 6.88 |

D0= عدم حذف غنچه، D1= حذف غنچه در مرحله رؤیت، D2= حذف غنچه در مرحله ۳ سانتی‌متری طول غنچه. *، **: به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns عدم اختلاف معنی‌دار است. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند.

D0= No disbudding, D1= Disbudding at the stage of bud appearance, and D3= Disbudding at the stage of 3 cm bud length. *, ** and ns: Significantly differences at 5% and 1% of probability levels, respectively. Means within each column followed by the same letters are not significantly different at $p \leq 0.05$, using Tukey's test.

**شکل ٤- تأثیر حذف غنچه بر اندازه پیاز لیلیوم ارقام ’Tiber‘ (بالا) و ’Donato‘(پایین). به‌ترتیب از سمت راست به چپ: بدون حذف غنچه، حذف غنچه در مرحله رؤیت و حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری طول غنچه**

**Figure 4- The effect of disbudding on lily bulb size of ‘Tiber’ (top) and ‘Donato’ (bottom) cultivars. From right to the left side: non-disbudding, disbudding at the stage of bud appearance, and disbudding at the stage of 3 cm bud length, respectively**

**جدول ۲- مقایسه میانگین و تجزیه واریانس تأثیر رقم، حذف غنچه و برهمکنش آنها بر وزن پیاز، اندازه پیاز، اندازه فلس، تعداد پیازچه و ضریب تکثیر لیلیوم**

**Table 2- Mean comparison and ANOVA for the effect of cultivar, disbudding, and their interaction effect on the lily bulb weight, bulb size, scale size, number of bulblets, and propagation coefficient of Lily**

| | | وزن پیاز<br>**Bulb weight (g)** | اندازه پیاز<br>**Bulb size (cm)** | اندازه فلس<br>**Scale size ($cm^2$)** | تعداد پیازچه<br>**Bulblet number** | ضریب تکثیر<br>**Propagation coefficient** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| رقم<br>Cultivar | | | | | | |
| ‘Tiber’ | | 63.51b | 17.07b | 3.55b | 1.04b | 1.10b |
| ‘Donato’ | | 89.48a | 19.50a | 6.04a | 1.85a | 1.19a |
| حذف غنچه<br>Disbudding | | | | | | |
| D0 | | 49.64c | 15.94c | 3.88c | 1.19b | 1.12b |
| D1 | | 94.91a | 19.66a | 5.40a | 1.51a | 1.15a |
| D2 | | 84.95b | 19.24b | 5.10b | 1.63a | 1.16a |
| رقم<br>Cultivar | حذف غنچه<br>Disbudding | | | | | |
| ‘Tiber’ | D0 | 42.42e | 14.93e | 2.73e | 1.00c | 1.10c |
| | D1 | 82.09b | 18.51b | 4.20c | 1.07c | 1.11c |
| | D2 | 66.04c | 17.76c | 3.71d | 1.05c | 1.11c |
| ‘Donato’ | D0 | 56.87d | 16.95d | 5.02b | 1.39b | 1.14b |
| | D1 | 107.73a | 20.82a | 6.60a | 1.96a | 1.20a |
| | D2 | 103.85a | 20.72a | 6.48a | 2.20a | 1.22a |
| منابع تغییر<br>S.O.V | | | | | | |
| رقم<br>Cultivar | | ** | ** | ** | ** | ** |
| حذف غنچه<br>Disbudding | | ** | ** | ** | ** | ** |
| رقم × حذف غنچه<br>Cultivar × Disbudding | | ** | * | * | ** | ** |
| خطا<br>Error | | 68.7 | 0.67 | 0.18 | 0.10 | 0.001 |
| ضریب تغییرات<br>CV (%) | | 10.84 | 4.46 | 8.89 | 14.58 | 3.02 |

D0= عدم حذف غنچه، D1= حذف غنچه در مرحله رؤیت، D2= حذف غنچه در مرحله ۳ سانتی‌متری طول غنچه. *، **: به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند.

D0= No disbudding, D1= Disbudding at the stage of bud appearance, and D3= Disbudding at the stage of 3 cm bud length. *, and **: Significantly differences at 5% and 1% of probability levels, respectively. Means within each column followed by the same letters are not significantly different at $p\leq0.05$, using Tukey's test.

**برهمکنش رقم و حذف غنچه بر صفات مورد ارزیابی**

داده‌های تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نشان داد که صفات وزن پیاز، تعداد پیازچه و ضریب تکثیر در سطح احتمال یک درصد و صفات اندازه پیاز و اندازه فلس در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر برهمکنش رقم و حذف غنچه قرار گرفتند. داده‌های مقایسه میانگین برهمکنش رقم و حذف غنچه (جدول ۱ و ۲) نشان داد که در رقم ‘Tiber’ بیش‌ترین وزن پیاز (۸۲/۰۹ گرم)، اندازه پیاز (۱۸/۵۱ سانتی‌متر، شکل ۴) و اندازه فلس (۴/۲۰ سانتی‌متر مربع) با حذف غنچه در مرحله رؤیت حاصل شد که نسبت به تیمار عدم حذف همین رقم به‌ترتیب ۹۳/۵ درصد، ۲۴/۰ درصد و ۵۳/۹ درصد افزایش نشان داد. از طرف دیگر، کم‌ترین میزان صفات ذکر شده در این رقم در تیمار عدم حذف غنچه ثبت گردید. علاوه‌براین، در رقم ‘Tiber’ از لحاظ صفات تعداد پیازچه و ضریب تکثیر بین تیمارهای حذف غنچه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در رقم ‘Donato’، با اعمال تیمارهای حذف غنچه، وزن پیاز، اندازه پیاز و اندازه فلس افزایش یافت به‌نحوی که در تیمار حذف غنچه در مرحله رؤیت، به‌ترتیب ۸۹/۴ درصد، ۲۲/۸ درصد و ۳۱/۵ درصد بیش‌تر از تیمار عدم حذف

غنچه بود. در این مورد، تیمار حذف غنچه در مرحله رؤیت و تیمار حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری در یک گروه آماری قرار گرفتند. علاوه‌براین، تعداد پیازچه و ضریب تکثیر در این رقم با اعمال تیمارهای حذف غنچه افزایش نشان داد به‌نحوی که در تیمار حذف غنچه در مرحله سه سانتی‌متری نسبت به تیمار عدم حذف غنچه، به‌ترتیب ۵۸/۳ درصد و ۷/۰ درصد بیش‌تر بود. هر چند، در این دو صفت نیز، بین دو تیمار حذف غنچه در مرحله رؤیت و مرحله سه سانتی‌متری در رقم 'Donato'اختلاف معنی‌داری ملاحظه نشد.

## بحث

ارتفاع ساقه، استحکام ساقه و تعداد گل در ساقه، سه معیار مهم در کیفیت گل از نظر تجاری هستند. از نظر کیفی، قائم بودن ساقه، بدون خمیدگی و یا حداقل خمیدگی ساقه در گلدان یا سبد گل در بعد از برداشت، معیار بسیار مهمی می باشد (۴). در پژوهشی روی لیلیوم اورینتال رقم Siberia، حذف غنچه سبب کاهش ارتفاع گیاه شد (۲۳). در آزمایشی دیگر روی لیلیوم آسیایی حداکثر ارتفاع ساقه بدون حذف غنچه گزارش شد، در حالی‌که حداقل ارتفاع ساقه با حذف غنچه پس از ظهور اولین غنچه مشاهده گردید (۱۴) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. در گیاهان پیازی مانند لیلیوم رشد گل‌ها و قسمت انتهایی رشد ساقه بیش‌تر به فتوسنتز فعلی نسبت به ذخایر پیاز بستگی دارد. ذخایر پیاز عمدّتا برای رشد اولیه، تشکیل ریشه و برگ مورد استفاده قرار می‌گیرد. این بدان معنی است که دو محل مصرف[1] رقیب برای فتوسنتز، یعنی ساختارهای تولید مثل و پیازهای رو به رشد وجود دارد. از بین بردن محل مصرف گل به‌طور بالقوه باعث افزایش انتقال تولیدات فتوسنتزی به پیازهای دختری در حال رشد می‌شود. اما همه اینها بی فایده خواهند بود اگر در مرحله حذف غنچه، انتقال این تولیدات فتوسنتزی به پیازهای دختری در مرحله مناسب برای اقدام به‌موقع محقق نشود (۱۳). از آنجایی‌که در آزمایش حاضر، حذف غنچه‌ها در مرحله رؤیت غنچه سبب تولید کوتاه‌ترین گیاهان شد، در نتیجه کاهش تعداد برگ نیز دور از انتظار نخواهد بود که با نتایج سایر پژوهشگران هم‌خوانی دارد (۱۴ و ۱۵). در پژوهشی، بیش‌ترین تعداد فلس با عدم حذف غنچه گزارش شد، در حالی‌که کم‌ترین تعداد فلس با حذف غنچه پس از ظهور اولین غنچه مشاهده شد (۱۳) درحالی‌که، در تحقیق حاضر بیش‌ترین و کم‌ترین تعداد فلس به‌ترتیب با حذف غنچه در مرحله رؤیت و عدم حذف غنچه مشاهده گردید. در رقم Corrida هیبرید آسیایی لیلیوم، حذف غنچه زودهنگام سبب بیش‌ترین تعداد پیازچه، حذف غنچه در اواسط رشد، سبب تولید بالاترین تعداد فلس و وزن پیازچه و حذف غنچه دیرهنگام سبب بیش‌ترین اندازه و وزن پیاز گردید (۳). حذف غنچه به‌عنوان ابزاری مؤثر برای بهبود تولید پیاز در بسیاری از گیاهان زینتی از جمله لیلیوم استفاده شده است (۳، ۵، ۹ و ۲۱). حذف غنچه فرآیند توسعه پیاز را از طریق تأثیر آن بر انباشت و انتقال کربوهیدرات در پیازهای لیلیوم، بهبود می‌بخشد (۲۳). مقدار ماده خشک تولید شده توسط برگ‌ها، و در دسترس بودن آن برای فلس‌های پیاز، جهت تولید پیازهای درشت اهمیت دارد. گل‌ها و دمگل‌ها، مقدار قابل توجهی از ماده خشک را در طی دوره رشد مصرف می‌کنند، در غیر این صورت، این مواد می‌توانند جهت بزرگ شدن پیازها دردسترس باشد (۲۰). در یک بررسی بیان شد که گل آذین لیلیوم عید پاک با چهار غنچه، در طول دوره رشد خود بیش از ۸ گرم ماده خشک مصرف می‌کنند. آنها همچنین گزارش نمودند که به تأخیر انداختن حذف غنچه به مدت دو تا سه هفته، تأثیر آن بر ساختار گیاه را به حداقل می‌رساند و به پیاز اجازه می‌دهد مقدار قابل توجهی ماده خشک اضافی بدست آورد. مصرف ماده خشک غنچه‌های لیلیوم عید پاک، در نزدیکی گلدهی به حداکثر می رسد، و تأخیر در حذف غنچه تا زمان شکوفایی کامل، ممکن است اثر مفید آن را به‌شدت کاهش دهد (۱۵). بیش‌ترین و کم‌ترین وزن پیاز، اندازه پیاز و اندازه فلس لیلیوم آسیایی رقم Royal Trinity به‌ترتیب با حذف غنچه پس از رؤیت اولین غنچه و عدم حذف غنچه گزارش شد که با نتایج پژوهش حاضر در هر دو رقم 'Tiber' و 'Donato'هم‌خوانی دارد (۱۴). در پژوهشی دیگر بیان شد که وزن پیاز و نه وزن پیازچه در رقم Croft لیلیوم عید پاک واکنش های قابل‌توجهی را نسبت به حذف غنچه نشان ندادند، زیرا در هر مورد تفاوت بین گیاهان غنچه حذف شده و حذف نشده کم بود. بیش‌ترین افزایش وزن در هر دو پیاز و پیازچه پس از حذف غنچه‌های بسیار کوچک رخ داد. تأخیر در حذف غنچه تا زمان شکوفایی کامل منجر به تفاوت‌های کوچک تدریجی در پیازها و پیازچه‌ها می‌شود (۱). برای افزایش حداکثری وزن پیازها، غنچه‌های لیلیوم باید به‌محض اینکه قابل مشاهده شدند، حذف شوند. بااین‌حال، به‌نظر می‌رسد حذف غنچه‌های گل در اوایل فصل در افزایش اندازه پیاز نسبت به حذف با تأخیر، کم‌تر مؤثر یا حتی مضر باشد. عملکرد پیاز رقم Enchantment زمانی بهتر بود که غنچه‌ها به‌محض امکان جدا شدن از نوک گیاه، با یک خمیدگی، بدون اینکه به برگ‌های واقع شده در زیر آن آسیب وارد شود، جدا شوند. این مورد می‌تواند زمانی انجام شود که غنچه‌ها ۱/۵تا ۳ سانتی‌متر طول داشته باشند (۲). گزارش شده است که حذف غنچه‌های گل در طول ۱/۵ یا ۴ سانتی-متر سبب افزایش به ترتیب ۱۲ و ۳۰ درصدی وزن تازه پیاز در مقایسه با شاهد (عدم حذف غنچه) می‌شود. غنچه‌ها یا گل‌های باز شده اغلب در تولید پیازهای لیلیوم عید پاک حذف می‌شوند. حذف غنچه زودهنگام، وزن پیاز را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. حذف دیرهنگام

---

1- Sink

غنچه باعث افزایش ۱۵ درصد وزن تازه پیاز در این گیاهان می‌شود (۲۱). برداشت گل‌ها در پنج رقم لیلیوم آسیایی (Campfire، Debutante، Impact، Moonfire و Snowcap) باعث کاهش اندازه پیازهای برداشت شده در مقایسه با پیازهای اولیه شد، درحالی‌که حذف غنچه بدون آسیب به ساقه، سبب افزایش اندازه پیازهای برداشت شده گردید (۵). محققان در پژوهشی گزارش کردند که برداشت ساقه لیلیوم از ۱۰ سانتی‌متری سطح زمین بر افزایش اندازه پیاز اثر دارد (۱۰). در آزمایشی دیگر نتایج نشان داد که حذف ساقه گل‌دهنده در پیاز خوراکی تأثیر معنی‌داری بر وزن و قطر پیاز ندارد (۱۱). بالاترین تعداد پیازچه و ضریب تکثیر در لیلیوم آسیایی رقم Royal Trinity با حذف غنچه پس از رؤیت اولین غنچه مشاهده شد درصورتی‌که، کم‌ترین میزان صفات مذکور همانند آزمایش حاضر با عدم حذف غنچه گزارش شد (۱۳).

## نتیجه‌گیری

در تمام صفات ارزیابی شده به استثنای تعداد برگ و تعداد فلس، رقم 'Donato' برتری محسوسی نسبت به رقم 'Tiber' داشت که این اختلاف معنی‌دار را می‌توان به فاصله ژنتیکی هیبریدهای متفاوت اورینتال و اوتی نسبت داد. با توجه به هدف اصلی این پژوهش که تعیین مناسب‌ترین تیمار حذف غنچه جهت کشت مجدد، تولید و تکثیر پیاز لیلیوم می‌باشد، حذف غنچه در مرحله رؤیت به شرط عدم آسیب به انتهای شاخه بهترین گزینه می‌باشد. حذف غنچه یک ابزار مهم عملیاتی است که می‌تواند به‌منظور تولید پیازهای درشت از طریق کشت مجدد مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع


1- Blaney K.T., and Roberts A.N. 1963. Effect of time of disbudding on bulb and bulblet production in Croft Easter lily. Oregon Ornamental and Nursery Digest 7: 3-4.
2- Blaney K.T., and Roberts A.N. 1967. Flower count compared to total bulb weight. Oregon Ornament and Nursery Digest 9: 1-2.
3- Dantuluri V.S.R., and Misra R.L. 2002. Response of Asiatic hybrid lily to flower bud removal. Journal of Ornamental Horticulture 5(2): 74-75.
4- Davies L.J., Brooking I.R., Catley J.L., and Halligan E.A. 2002. Effects of constant temperature and irradiance on the flower stem quality of *Sandersonia aurantiaca*. Scientia Horticulturae 93: 321-332.
5- Hemophill D.D., Reed J.R., and Wilson R.L. 1987. Cultural influences on bulb production. North American Lily Society 97-99.
6- Hogland D.R. 1950. The Water Culture Method for Growing Plants without Soil. The College of Agriculture. Agriculture. California: Agricultural Experiment Station Publications. Retrieved from http://www.archive.org/stream/waterculturem3450hoag#page/n0/mode/2up
7- John A.Q., and Khan F.U. 2003. Impact of flower and leaf removal on bulb production in tulip cv. Cassini. SKUAST Journal of Research 5(2): 190-193.
8- Kong Y., Bai J., Lang L., Bao F., Dou X., Wang H., and Shang H. 2017. Floral scents produced by Lilium and Cardiocrinum species native to China. Biochemical Systematics and Ecology 70: 222-229.
9- Kruijer C.J. 1982. Mechanical beheading of lilies looked at critically. Bloembollen Culture 92(49): 1278-1279.
10- Kumar R., Arora J.S., and Singh S. 1999. Studies on the bulb production storage medium and vase life of Asiatic hybrids of *Lilium* cultivars. Journal of Ornamental Horticulture 2(2): 761-767.
11- Kwon Y.S., Kim C.W., Kim J.S., Moon J.S., and Yoo K.S. 2016. Effects of bolting and flower stem removal on the growth and chemical qualities of onion bulbs. Horticulture, Environment, and Biotechnology 57: 132-138.
12- Langens-Gerrits M.M., Kuijpers A.M., De Klerk G.J., and Croes A.F. 2003. Contribution of explants carbohydrate reserves and sucrose in the medium to bulb growth of lily regenerated on scale segments in vitro. Physiologia Plantarum 117: 245-255.
13- Malik K.M. 2014. Studies on Flower Regulation in Asiatic Lilium (*Lilium x elegans Thunb*). University of Agricultural Sciences and Technology of Kashmir, India.
14- Malik K.M., Shiekh M.Q., Nazki I.T., and Mir S.A. 2017. Influence of storage temperature, storage duration, and disbudding on bulb production in Asiatic *Lilium* cv. 'Royal Trinity'. Biosciences Biotechnology Research Asia 14(2): 577-585.
15- Massodi M. 2011. Impact of nutritional management and disbudding on the biometric characteristics of Asiatic *Lilium*. Ph.D. thesis submitted to SKUAST-K Shalimar Srinagar India, 212. http://krishikosh.egranth.ac.in/handle/1/91391
16- Mohammadi Torkashvand A., and Seyedi N. 2016. To evaluate the influence of Ca concentration in nutrient solution and growth medium on the quantitative and qualitative yield of Lilium (Asiatic hybrid *Lilium*). Iranian Journal of Horticultural Science 46(4): 637-647. (In Persian with English abstract)
17- VAN DEN BOS. 2021. https://www.vandenbos.com.

18- Van Tuyl J.M., and Arens P. 2011. Lilium: Breeding history of the modern cultivar assortment. Acta Horticulturae, 900: 223-230. doi:10.17660/ActaHortic.2011.900.27.
19- VWS. 2021. https://www.vws-flowerbulbs.nl.
20- Wang Y.T., and Breen P.J. 1984. Respiration and weight changes of Easter lily during development. Horticultural Sciences 19: 702-703.
21- Wang Y.T., and Breen P.J. 1986. Growth and photosynthesis of Easter lily in response to flower bud removal. Journal of American Society for Horticultural Science 111(3): 442-446.
22- Wani M.A., Nazki I., Din A., Malik S., and Rather Z. 2016. Photosynthate Partitioning in Asiatic Lilies Under Ammoniacal and Nitrate Sources of Nitrogen. Agricultural Research 5: 230–235.
23- Xia Y.P., Zheng H.J., and Huang C.H. 2005. Studies on the bulb development and its physiological mechanisms in Lilium Oriental hybrids. Acta Horticulturae 673(1): 91-98.

Journal of Horticultural Science
Vol. 35, No.2, Summer 2021, P. 301-311
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۳۱۱-۳۰۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

# Study the Effect of Cultivar and Disbudding on the Bulb Propagation of Lily

**S. Heidari[1]*- S. Reezi[2]- S.N. Mortazavi[3]- A. Nikbakht[4]**
Received: 25-11-2020
Accepted: 17-02-2021

**Introduction:** Lily (*Lilium* spp.) is one of the most beautiful and popular ornamental bulbous plants that belongs to the *Liliaceae* family. Lilies (*Lilium* spp.) belong to one of the six more important genera of bulbous flowers, which is the fourth most famous plant in the world after Rose, Dianthus, and Chrysanthemum. The genus Lilium comprises more than 100 species, which are mainly distributed in the northern hemisphere. These species are taxonomically divided into seven sections, including Martagon, Pseudolirium, Lilium, Archelirion, Sinomartagon, Leucolirion, and Oxypetalum. It has been suggested that early removal of Lily buds should enhance Lily bulb yield. Disbudding improves the process of bulb development through its influence on the accumulation and transport of carbohydrates in Lily bulbs. In several studies, the effect of bud removal on vegetative characteristics and propagation of Lily bulbs including cut flower length, leaf area, size and weight of the bulb, number, and size of bulbs, number, and size of scales have been reported. With considering the importance of Lily bulb production in the country and the lack of current research on new Lilium hybrids, including various Oriental and OT hybrids, this study was conducted to investigate the effect of cultivar and disbudding on the vegetative characteristics of Lily flowers and its effect on production and multiplication of Lily.

**Materials and Methods:** To study the effect of cultivar and disbudding on the growth and bulb production of Lily, a factorial experiment in a completely randomized design with two cultivars (the Tiber and Donato), and three disbudding items (D0= No disbudding, D1= Disbudding at the stage of bud appearance, and D3= Disbudding at the stage of 3 cm bud length) was conducted in three replications. This research was carried out in hydroponic greenhouses in Dehaghan city, Isfahan province, in an area with a longitude of 51˚, 61΄ E, 31˚, 96΄ N, and 2004 m mean above sea level. Temperature, humidity, and light intensity inside the greenhouse during the growing period was 15-25 ℃, 50-70 percent, and 20-30 kilolux, respectively. Evaluated characteristics included the plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, number of buds, bulb weight, number of the scale, scale size, number of bulblets, and propagation coefficient.

**Results and Discussion:** The results showed that cultivar and disbudding (Except stem diameter) significantly affect all evaluated traits, while their interaction had a significant impact on bulb weight, bulblet number, propagation coefficient, bulb size, and scale size. In the Donato cultivar, plant height, stem diameter, leaf area, bulb weight, bulb size, scale size, number of bulbs, and propagation coefficient were 32.9%, 6.9%, 35.3%, 40.9%, 14.2%, 70.1%, 77.9%, and 8.2%, respectively higher than Tiber cultivar, while in the Tiber cultivar, the number of leaves and number of scales was 12.5% and 54.9%, respectively higher than the Donato cultivar. The highest plant height and leaf area were observed in non-disbudding treatment. However, the shortest stem and the smallest leaf were observed in disbudding at the stage of bud appearance and disbudding at the stage of 3 cm bud length which was 10.1% and 9.4%, respectively less than the non-disbudding treatment. By disbudding at the stage of bud appearance, the maximum number of scales, the heaviest bulb, the largest bulb, and the maximum scale size was measured that increased by 11.3%, 91.2%, 23.3%, and 39.2%, respectively compared to the non-disbudding treatment, while the lowest value of mentioned traits was recorded with non-disbudding treatment. By applying bud removal treatments up to the third level, the number of leaves, the number of bulbs, and propagation coefficient increased by 2.7%, 37.0%, and 3.6%, respectively, compared to the non-disbudding treatment, although there was no statistically significant difference between disbudding at the stage of 3 cm and disbudding at the stage of bud appearance. On the other hand, the lowest value of these

1 and 3- Gratuated Ph.D. Students and Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: heidari.sajad@znu.ac.ir)
2- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
4- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
DOI: 10.22067/jhs.2021.67093.0

traits occurred in the non-disbudding treatment. In the Tiber cultivar, the highest bulb weight, bulb size, and scale size were obtained by disbudding at the stage of bud appearance, which showed an increase of 93.5%, 24.0%, and 53.9%, respectively, compared to the non-disbudding treatment. Furthermore, in the Donato cultivar, disbudding at the stage of bud appearance significantly increased bulb weight, bulb size, and scale size by 89.4%, 22.8%, and 31.5%, respectively, compared to the non-disbudding. Also, the highest bulblet number and propagation coefficient in this cultivar were obtained by disbudding at the stage of 3 cm bud length, which increased 58.3% and 0.7%, respectively compared to the non-disbudding treatment.

**Conclusion:** In general, it can be concluded that the Donato cultivar has a significant advantage in most of the evaluated traits over the Tiber cultivar, which can be attributed to the genetic distance between different Oriental and OT hybrids. Disbudding at the stage of bud appearance, if the end of the branch is not damaged, was the most appropriate treatment for replanting, production, and propagating of Lily bulb.

**Keywords:** Bulblet, Lilium, Production, Scale, Variety

بسم الله الرحمن الرحیم

# مندرجات

# Contents

# HORTICULTURAL SCIENCES

**(AGRICULTURAL SCIENCES AND TECHNOLOGY)**

**Vol. 35 No. 2 2021**

**Published by:** College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.



**Publisher:** Ferdowsi University of Mashhad.

**Address:** College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

**P.O.BOX:** 91775- 1163

**Tel:** +98-0511- 38804621

**Fax:** +98-0511- 8787430

**E-Mail:** Jhorts4@um.ac.ir

**Web Site:** https://jhs.um.ac.ir